

FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER
(Professeur LISBONNE)

RECHERCHES
SUR LA
CONDUCTIBILITÉ et L'ÉLECTROPHORÈSE
des SUSPENSIONS MICROBIENNES

Essai de différenciation des espèces
microbiennes
par leurs propriétés électriques.

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier
Le 16 Juillet 1935

PAR

RAYMOND SEIGNEURIN

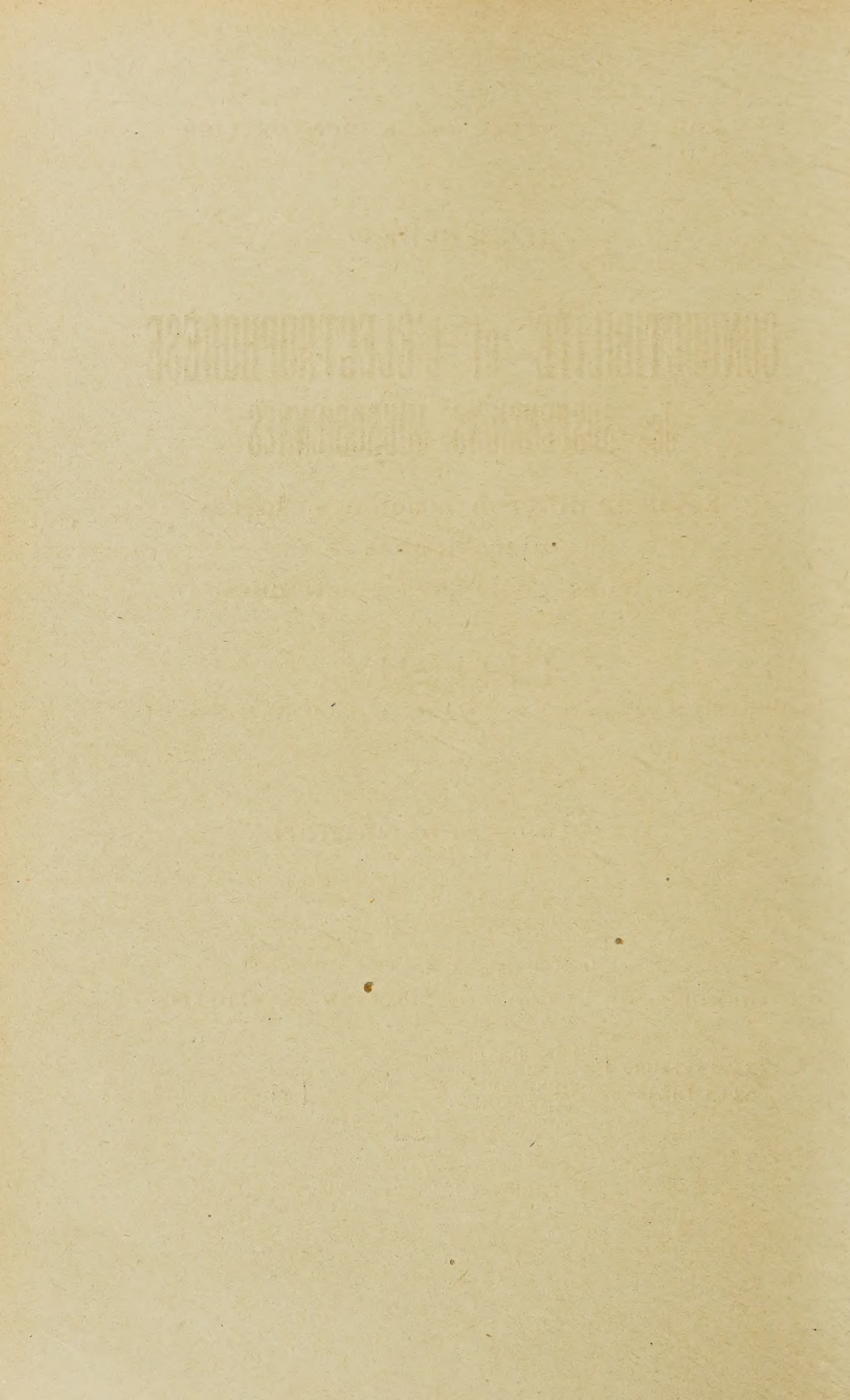
Licencié es-Sciences (1931)
Ex-boursier de Recherches de Chimie Biologique (1931)
Prix Swiecicki (1933)
Diplômé d'Hygiène (1934)
Chef de laboratoire de Microbiologie à la Faculté (1934)
né le 10 Mai 1912 à Bergerac (Dordogne)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

EXAMINATEURS DE LA THÈSE	{	MM. LISBONNE, <i>président</i> .	}	<i>Assesseurs</i>
		J. CABANNES, Prof. Fac. Sciences.		
		CRISTOL, professeur.		
		LAMARQUE.		

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1935



RECHERCHES

SUR LA

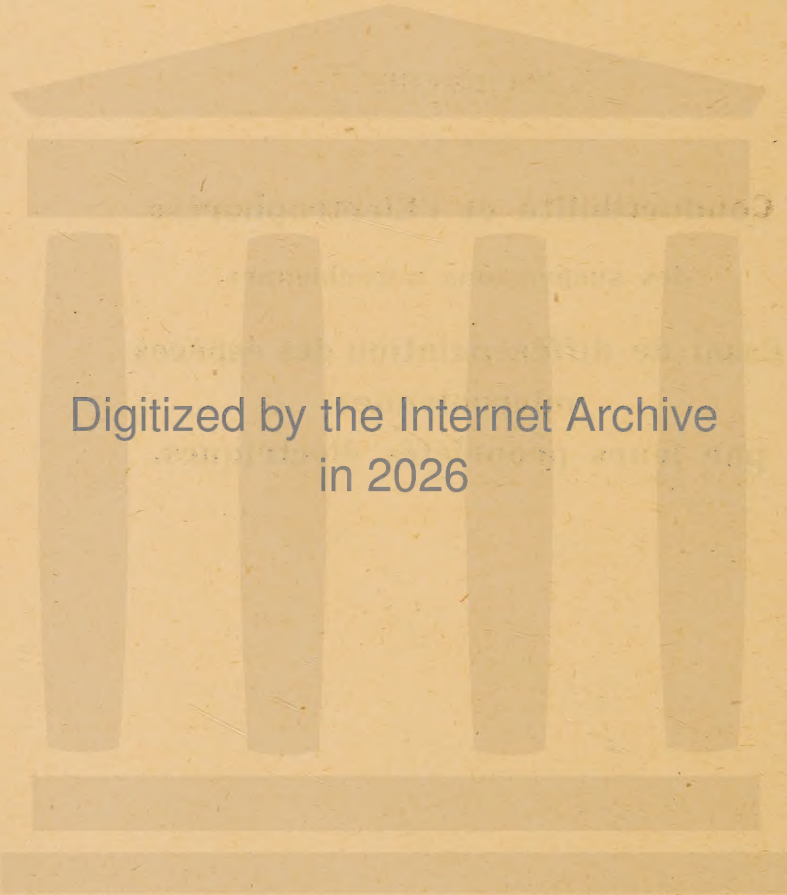
Conductibilité et l'Electrophorèse

des suspensions microbiennes

Essai de différenciation des espèces

microbiennes

par leurs propriétés électriques.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555202_0097

Travail des Laboratoires de Microbiologie
de la

N° 57

FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER
(Professeur LISBONNE)

RECHERCHES

SUR LA

CONDUCTIBILITÉ et L'ÉLECTROPHORÈSE des SUSPENSIONS MICROBIENNES

Essai de différenciation des espèces
microbiennes
par leurs propriétés électriques.

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine
de Montpellier

Le 16 Juillet 1935

PAR

RAYMOND SEIGNEURIN

Licencié es-Sciences (1931)

Ex boursier de Recherches de Chimie Biologique (1931)

Prix Swiecicki (1933)

Diplômé d'Hygiène (1934)

Chef de laboratoire de Microbiologie à la Faculté (1934)

né le 10 Mai 1912 à Bergerac (Dordogne)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

EXAMINATEURS
DE LA THÈSE

{ MM. LISBONNE, *président*.
J. CABANNES, Prof. Fac. Sciences.
CRISTOL, professeur. } *Assesseurs*
LAMARQUE.

MONTPELLIER

IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ

(Pierre-Rouge)

1935

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie	MM. J. DELMAS
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	L. HÉDON
Chimie biologique et médicale.....	CRISTOL.
Physique médicale	PECH
Anatomie pathologique	GRYNFELTT.
Microbiologie.....	LISBONNE.
Pathologie et thérapeutique générales	BOSC.
Thérapeutique et matière médicale	BOUDET.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PUECH.
Hygiène	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale	GAUSSEL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	GIRAUD.
Clinique médicale.....	VIRES, asses.
Clinique chirurgicale.....	RIMBAUD.
Clinique obstétricale	MASSABUAU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	RICHE.
Clinique des maladies des enfants et hygiène du premier âge.....	P. DELMAS.
Clinique de dermatosyphiligraphie	EUZIÈRE, <i>doyen</i>
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LEENHARDT.
Clinique des maladies des voies urinaires	MARGAROT.
Clinique gynécologique	ETIENNE.
Clinique ophtalmologique	JEANBRAU.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	LAPEYRE.
Matière médicale (ch. de c.)	VILLARD.
Radiologie (ch. de c.).....	TERRACOL.
Anatomie (ch. de c.).....	CABANNES.
Histologie (ch. de c.).....	LAMARQUE.
	LAUX.
	GRANEL.

Honorariat

Doyen honoraire : M. MAIRET

Professeurs honoraires :

MM. RODET, TÊDENAT, MAIRET, VALLOIS, FORGUE, ESTOR,
BERTIN-SANS et GALAVIELLE.

Chargés de cours complémentaires

Pathologie expérimentale	MM. PAGÈS.
Pathologie externe	AIMES.
Médecine opératoire	SOUBEIRAN, ag. libre.
Accouchements	COLL DE CARRÈRA
Clinique phthisiologique	GAUSSEL, prof.
Clinique propédeutique médicale.....	BOULET.
Clinique des maladies contagieuses.....	JANBON.
Stomatologie.....	D ^r WATON.

Agrégés en exercice

Médecine.....	MM. BOULET.	Chirurgie.....	MM. AIMES.
	PAGÈS.		MOURGUE-MOLINES.
	JANBON		GUIBAL.
	BAUMEL		ROUX.
	VIDAL	Obstétrique	COLL DE CARRERA
		Bactériologie.....	CARRÈRE.

Examineurs de la thèse

MM. LISBONNE, prof., <i>président</i> .	MM. CRISTOL, professeur.
J. CABANNE, prof. Fac. Sciences.	LAMARQUE,

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A LA MÉMOIRE VÉNÉRÉE DE MON GRAND'PÈRE

*Par son exemple, il m'a enseigné
l'amour du travail et de la Science.*

A MA GRAND'MÈRE,

*qui, dans mon enfance, s'est occupée
de moi avec dévouement.*

A MA MÈRE,

*qui, par son amour, sa sollicitude
et ses conseils de tous les jours, m'a
fait ce que je suis.*

A MON PÈRE, LE DOCTEUR SEIGNEURIN

*Il m'a fait adopter comme devise :
« Labor improbus omnia vincit ».*

MEIS ET AMICIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR M. LISBONNE,

Chevalier de la Légion d'Honneur,
Professeur de Microbiologie à la Faculté de Médecine
de Montpellier,
Chef de Service à l'Institut Pasteur de Paris (1932-1935).

En témoignage de ma vive reconnaissance pour son enseignement, ses conseils et sa bienveillante sollicitude.

A MON JURY DE THÈSE

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE MONTPELLIER

AVANT-PROPOS

Sur le point de terminer ma scolarité médicale, je ne saurais me dérober au devoir particulièrement agréable d'exprimer à tous mes Maîtres, tant de la Faculté de Médecine que de la Faculté des Sciences, ma reconnaissance profonde et respectueuse.

En 1928, jeune bachelier, je m'asseyais sur les bancs du P. C. N., ignorant ma destinée ; du moins, je n'apercevais encore au bout de ma route indécise qu'un vague diplôme de doctorat succédant à une longue théorie d'années et d'examens. C'est alors que j'eus le bonheur de trouver en Monsieur CARRIÈRE, Professeur de Chimie générale à la Faculté des Sciences, le guide bienveillant et sûr de mes premiers pas dans mes études supérieures. Sans lui, je n'aurais jamais eu la curiosité de goûter les joies de la chimie organique (première étape indispensable vers la chimie biologique), et je n'aurais jamais eu l'idée de préparer une licence ès-sciences. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de tous mes remerciements et de ma très sincère gratitude ; je n'oublierai jamais la bienveillance avec laquelle il m'a toujours reçu, la patience avec laquelle il m'a toujours donné les conseils les plus sûrs.

Au début de mes études médicales, j'ai eu le très grand honneur d'approcher l'un des Maîtres les plus éminents de la Physiologie, le Professeur Emmanuel HÉDON. Je m'incline respectueusement devant la mémoire du Savant, du Maître dont j'ai suivi l'enseignement avec une religieuse attention, et je reste confus devant sa sollicitude, car c'est lui qui m'a encouragé à suivre la voie que je n'ai pas quittée depuis lors. J'ai retrouvé en son fils, le Pro-

esseur Louis HÉDON, les sentiments dont le père m'avait honoré ; je lui en exprime ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur CRISTOL m'a accueilli de bonne heure dans son laboratoire : il m'a ainsi permis de compléter mes études chimiques pures et de m'initier aux analyses biologiques ; je me fais un devoir de le remercier de l'intérêt qu'il m'a témoigné et des conseils éclairés qu'il a bien voulu me donner en maintes occasions.

Mais c'est à Monsieur le Professeur LISBONNE, qui, depuis quatre années, guide mes études et mes recherches avec tant d'attention, de patience et d'inépuisable bonté, que va ma gratitude la plus émue.

Admis dans son laboratoire depuis le début de ma troisième année de médecine, j'ai trouvé en lui le Maître plein d'allant et d'entrain, qui m'a inculqué le goût du travail méthodique et de la recherche expérimentale. C'est lui qui, se basant sur certaines aptitudes, pourtant bien faibles, pour tout ce qui concerne les sciences pures, mais surtout pour mon enthousiasme pour elles, m'a poussé dans cette voie nouvelle et déjà si féconde de la physique appliquée à la bactériologie ; c'est lui qui m'a inspiré un précédent mémoire sur les charges électriques des « Brucella », et qui m'a proposé le sujet de ce travail. Je voudrais pouvoir, mieux que par ces mots, exprimer les sentiments que j'éprouve vis-à-vis de ce Maître, qui n'a ménagé ni son temps, ni sa patience pour guider mes débuts et faciliter mon travail. Sa grande bonté pour moi, est le souvenir le plus fidèle qui se soit fixé en mon cœur.

Je ne saurai oublier Monsieur Jean CABANNES, Professeur de Physique à la Faculté des Sciences, dont j'ai suivi les enseignements avec enthousiasme et admiration. Ce Maître éminent a bien voulu me faire bon accueil dans son laboratoire, me faire profiter de la science de ses collaborateurs et mettre ses appareils à ma disposition.

Je lui suis particulièrement reconnaissant de ces témoignages de sollicitude.

Je m'en voudrais d'oublier le Professeur agrégé CARRÈRE, et je

me fais un agréable devoir de le remercier pour la sympathie qu'il m'a toujours témoignée.

Ma mémoire me rappelle enfin agréablement, le bienveillant accueil que j'ai toujours reçu auprès de Monsieur GAY, Professeur de Chimie-Physique à la Faculté des Sciences. Ses conseils judicieux m'ont beaucoup aidé à mener à bien ce travail. Je m'excuse de l'avoir si souvent dérangé. Je lui en exprime ma respectueuse gratitude.

M. LASSEUR, Président de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie de Nancy, a eu la bonté de m'ouvrir son laboratoire, de me faire profiter de ses éminents conseils et de sa longue expérience. Qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

M. LECOMTE DU NOUY, Chef de Service à l'Institut Pasteur, a daigné également me recevoir dans son laboratoire. Je lui en exprime ma sincère gratitude.

Je remercie M. le Professeur agrégé LAMARQUE de la bienveillante attention avec laquelle il a lu ce travail ; il a bien voulu faire partie du jury de cette thèse. Je suis très sensible à cette marque d'attention qui s'ajoute à tant d'autres.

Je remercie également M. le Professeur CARRIEU de la grande bienveillance qu'il m'a toujours manifestée.

Enfin, je n'aurai garde d'oublier, en terminant, mes anciens Maîtres de français-latin et de mathématiques de mon vieux Lycée : MM. HOULES et DESBATS à qui je sois tant, et dont l'excellent souvenir restera fixé en ma mémoire : qu'ils veuillent trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A tous mes Maîtres de la Faculté de Médecine, des Sciences et des Hôpitaux, j'adresse mes vifs remerciements et ma dévouée gratitude.

INTRODUCTION

Position du sujet.

Dans la lutte qu'ils engagent contre l'organisme vivant, les microbes pathogènes se modifient d'une façon notable. Si les transformations qu'ils subissent ont été depuis longtemps étudiées dans leurs conséquences bio-chimiques (cultivabilité, virulence, etc...), il nous semble qu'elles l'ont été beaucoup moins en ce qui concerne leurs propriétés physiques et, en particulier, leurs propriétés électriques. La « marque » imprimée par l'organe ou l'organisme sur le microbe qui a séjourné en lui (nous voulons parler de ces propriétés biologiques et chimiques nouvelles, acquises par le germe, après passage sur telle ou telle espèce animale, qui aboutissent à la création au sein de l'espèce de types ou de races différentes : humain, bovin..., de la tuberculose par exemple) ; cette « marque » ne se traduirait-elle pas aussi, ou plutôt ne pourrait-elle être l'expression d'une modification de l'édifice ionique du microbe, d'un changement dans son état électrique ? C'est l'hypothèse qui est à la base de ce travail. Nous avons voulu la soumettre au contrôle de l'expérience.

Mais, avant d'entreprendre cette étude, il nous a paru utile d'examiner d'une façon générale les propriétés électriques des microbes et de leurs suspensions.

Aperçu des propriétés électriques des microbes : la charge électrique. Les particules microbiennes dispersées dans un liquide (eau distillée, sérum physiologique, liquide nutritif, sérum) ont, des caractères tout à fait particuliers du fait de leurs dimensions. Les facteurs physiques en présence desquels elles se trouvent,

représentent pour elles des forces importantes, qui seraient négligeables pour des êtres de dimensions plus considérables. Aussi, toutes leurs propriétés physiques et même biochimiques sont-elles dominées par des phénomènes électro-statiques dépendant de leurs charges.

La charge électrique des microbes nous apparaît comme un élément de première importance ; encore est-elle fonction de multiples facteurs parmi lesquels le pH est le plus influent. Sans doute, elle ne permet pas de caractériser un microbe donné, mais ne pourrait-elle pas cependant fournir une indication du comportement de ce germe dans un liquide bien déterminé, dont on connaît par exemple la nature et le nombre des molécules dissoutes, la conductibilité, la viscosité, le pH ? D'où l'idée théorique qui peut être formulée : est-il possible de caractériser un genre microbien par son ou ses points iso-électriques (dans l'échelle des pH), par la conductibilité de ses suspensions (en fonction de la concentration en germes, de l'âge de la culture, de l'acidité ou l'alcalinité du milieu), par leur opacité à la lumière (suivant l'ionisation), etc...

**Cause première
de la charge
électrique.**

Quelle est l'origine de cette charge électrique ? On admet généralement qu'elle est due aux ions de la solution suspensoïde. Tout se passe comme si la « membrane des microbes était revêtue de charges électriques (pour la plupart négatives) auxquelles feraient vis-à-vis dans la zone moléculaire liquide qui baigne la paroi (membrane) un nombre égal de charges (positives pour la plupart) » (P. GIRARD, 1921). C'est admettre en somme, une double couche de Helmholtz autour de chaque particule en suspension. Or, sous l'action d'un champ électrique, si les charges étaient fixées les unes aux autres, la particule ne se déplacerait pas, et le phénomène de l'électrophorèse ne se produirait pas. Il faut qu'il y ait glissement des couches électrisées l'une sur l'autre,

et pour cela, qu'il y ait, avant tout déplacement, polarisation du microbe.

La charge est-elle une propriété intrinsèque du microbe ?

La charge électrique est-elle une propriété intrinsèque du microbe, variable par passages successifs sur des êtres vivants différents, et se conservant ensuite héréditairement, quel que soit le mode de culture et de vie ?

Ou bien est-ce un caractère essentiellement contingent, qui ne s'acquiert que dans un milieu quelconque, et variable avec celui-ci ?

L'étude des phénomènes électrocapillaires nous conduirait plutôt vers cette seconde hypothèse ; il semblerait cependant que la vie parasitaire ou symbiotique ait dû modifier héréditairement « l'architecture ionique » du microbe, comme elle modifie ses caractères biochimiques.

* * *

Pour l'instant, au cours de ce travail, nous étudierons dans une première partie, les propriétés électriques des suspensions microbiennes. Nous examinerons successivement pour chaque germe considéré les rapports qui unissent entre eux, la charge, la conductibilité, le pH et la concentration en microbes de la suspension : tous facteurs, étroitement unis les uns aux autres ; nous les ferons varier à tour de rôle en maintenant les trois autres constants, et nous obtiendrons une série de fonctions et de courbes pour chaque germe microbien donné.

Dans une deuxième partie, nous effectuerons les mêmes recherches sur des germes du même groupe botanique, mais provenant d'espèces animales différentes (porcin, bovin, caprin, équin, canin, humain...), complétant ainsi les travaux déjà parus sur la charge électrique des microbes provenant d'organes différents (articulations, système nerveux, poumons, sang...) ; nous

verrons si les propriétés électriques de ces germes s'expriment par des fonctions différentes.

* * *

Après quatre années de recherches, et malgré toutes nos précautions, nous avons le sentiment de ne pouvoir encore émettre que des hypothèses, tant il est difficile de traduire la vie en formules, surtout lorsqu'il s'agit d'êtres infiniment petits.

Cette thèse n'est qu'une ébauche, un plan de travail pour les expériences que nous poursuivrons, dans le but de faire entrer dans les caractéristiques des espèces microbiennes pathogènes, quelques constantes physiques.

HISTORIQUE

COHN et MENDELSON (1) en 1879, étudiaient déjà l'action du courant électrique sur la multiplication des bactéries, puis SCHIEL (2) en 1885, APOSTOLI et DELAQUERRIÈRE (3), PROCHOWNICK et SPAETH (4) en 1890, l'action du pôle positif sur les micro-organismes et l'action microbicide du courant galvanique. Mais tous ces auteurs eurent beaucoup plus en vue les effets chimiques de l'électrolyse et le comportement des microbes au voisinage des électrodes, que les propriétés particulières acquises par les plastides bactériennes placées dans un champ électrique.

**Suspensions
bactériennes
et champ
électrique.**

Les premières expériences sur les propriétés des suspensions bactériennes placées dans un champ électrique, remontent à une quarantaine d'années. LORTET (5), le premier en 1896, signale que des bacilles mobiles, placés dans le champ d'une bobine de Ruhmkorff, s'orientent dans le sens du courant ; cette orientation est instantanée. « Les bactéries, écrit-il, ne se touchent point bout à bout, elles sont parallèles entre elles et au courant. Celui-ci n'a aucune action sur leur vitalité. Mais le vieillissement, l'addition d'antiseptiques, sont autant de facteurs

(1) COHN et MENDELSON [31], *Cohn's Beiträge*, III, 1879.

(2) SCHIEL [151], *Deutsch. Arch. f. klin. med.*, XV, 1885.

(3) APOSTOLI et DELAQUERRIÈRE [3], *C. R. Ac. Sciences*, CX, 1890, p. 918.

(4) PROCHOWNICK et SPAETH [137], *Deutsch. med. Wochens.*, 1890 p. 564.

(5) LORTET L. [110], *C. R. Ac. Sciences*, CXXII, 1896, p. 892.

empêchant l'orientation de se produire : les bacilles tués ne s'orientent plus du tout. Cette propriété particulière serait donc en relation avec la vitalité du protoplasma. » L'auteur signale qu'il a d'ailleurs fait, en 1867, les mêmes expériences et obtenu les mêmes résultats, avec les spermaties des champignons et les lichens vivants. — Si l'on essaie de remonter encore, dans ce qu'on pourrait appeler la « préhistoire bactériologique », on trouverait qu'en 1864 KÜHNE avait déjà remarqué des phénomènes analogues, dont DALE ⁽¹⁾ en 1900 fait état en rapportant ses propres recherches sur les infusoires ciliés.

**Electrophorèse
bactérienne.**

NEISSER et FRIEDMANN ⁽²⁾ en 1904, dans leurs recherches sur la précipitation des suspensions, décrivent l'électrophorèse bactérienne : les bactéries migrent vers l'anode, ainsi qu'une suspension chargée négativement ; les bacilles imprégnés d'agglutinine sont précipités par le courant, entre les électrodes.

La même année, BECHHOLD ⁽³⁾ utilise un tube en U pour étudier l'électrophorèse bactérienne. De cette façon il peut suivre à l'œil nu les déplacements microbiens en observant l'éclaircissement de la suspension au voisinage de l'électrode négative. Il conclut, comme les auteurs précédents, que les bactéries vont à l'anode, et que celles chargées d'agglutinine sont agglomérées entre les électrodes un peu vers l'anode.

Citons, au passage, les nombreuses notes de HENRI et Mme GIRARD-MANGIN ⁽⁴⁾, sur l'agglutination des hématies, et le travail de GREELEY ⁽⁵⁾.

⁽¹⁾ DALE H. H. [38], *J. of. Physiology*, XXVI. Part. 1, 1900-1901, p. 291.

⁽²⁾ NEISSER et FRIEDMANN [117], *Munch. Med. Wochensch.*, I, I, 1904, p. 465-827.

⁽³⁾ BECHHOLD [6], *Zeits. für physik. chemie*, XI, VIII, 1904, p. 385.

⁽⁴⁾ HENRI et Mme GIRARD-MANGIN [79], *C. R. Soc. Biologie*, vol. 1 et 2 (11 notes), 1904.

⁽⁵⁾ GREELEY [68], *Biol. Bull. Woods Hole Marine biological Laboratories*, VII, 1904, p. 3.

Galvanotropisme
ou
électrophorèse ?

Au cours de ces différentes études, le terme de galvanotropisme revient assez souvent. Témoin encore le titre même du travail de CARLGREN ⁽¹⁾. Or, parler du galvanotropisme des microbes, c'est parler du galvanotropisme de n'importe quelle particule inorganisée et inerte en suspension dans un liquide non conducteur et placée dans un champ électrique. C'est un phénomène général qui s'applique aussi bien aux bactéries vivantes que mortes, et exclut par conséquent toute idée de tropisme électif. Si les expériences de LORTET semblent montrer que la propriété rapportée par lui est fonction de la vitalité du protoplasme, il ne faut pas oublier qu'il s'agit là d'une orientation dans un champ électrique et non d'un déplacement. Nous verrons plus loin ce qu'il faut en penser. Mais dès maintenant, nous devons considérer comme impropre, le terme de galvanotropisme, et lui substituer celui d'électrophorèse, c'est-à-dire de déplacement « passif » dans un champ électrique.

Electrophorèse
dans un champ
alternatif.

COTTON et MOUTON ⁽²⁾ mettent au point une technique simple et précise pour l'examen ultramicroscopique du transport électrique des particules en suspension. Ayant remarqué que le mouvement de la particule s'établit dès qu'on ferme le circuit, ils eurent l'idée d'employer une force électromotrice alternative. Ils virent alors chaque point lumineux se transformer en une droite plus brillante à ses extrémités : Les particules se mettent à vibrer dans le champ alternatif ainsi produit.

Récemment, Mlle CHOUCROUN ⁽³⁾ signale que les bactéries s'orientent parallèlement au champ ; quand on renverse le sens

⁽¹⁾ CARLGREN [22], *Zeits. f. allgemein Physiol.*, V, 1905, p. 123.

⁽²⁾ COTTON et MOUTON [35], « Les Ultramicroscopes », Masson, Paris, 1906.

⁽³⁾ Mlle CHOUCROUN [26 et 27], *C. R. Ac. Sciences*, CLXXXXVI: 1933, p. 777 ; CLXXXXIX, 1934, p. 36.

du champ, la bactérie fait un tête à queue et se remet en mouvement toujours dans le même sens ; elle en conclut qu'il doit y avoir hétérogénéité de l'électrisation.

Voici donc signalée et précisée l'existence d'un nouveau phénomène : une bactérie en suspension dans un liquide et placée dans un champ électrique, se déplace sous l'influence de ce dernier et subit une orientation si le champ est suffisamment intense. Comme technique, deux méthodes : l'une microscopique permettant de voir chaque microbe se déplacer vers une électrode ; l'autre, macroscopique, se réalisant dans un tube en U dont l'une des branches s'éclaircit après passage du courant. Vers quelle électrode se dirigent les plastides ? Pour les auteurs précédents, le transport se ferait vers l'anode.

Microbes
électro-négatifs
et microbes
électro-positifs.

V. HENRI et Mlle CERNOVODEANU ⁽¹⁾, employant la méthode microscopique, trouvent que le bacille du charbon, de la phléole, le bacille d'Eberth, de Koch, le *B. coli*, le staphylocoque doré ont une charge électrique négative, tandis que le *B. dysentérique* (FLEXNER) a une charge positive. Dans la suite, CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN ⁽²⁾, puis KOFMAN ⁽³⁾ seul (1927), établissent que toutes les bactéries sont négatives, à l'exception des bacilles dysentériques de SHIGA, FLEXNER, HISS, et des paratyphiques B, qui ont une charge positive dans leurs expériences. Il y aurait même des microbes indifférents : comme le para A, le *fœcalis alcaligenes*. D'ailleurs, ce signe varierait avec l'âge et le milieu de culture. Par contre, tous les germes

⁽¹⁾ Mlle CERNOVODEANU et V. HENRI [23], *C. R. Soc. Biologie*, I, XI, 1906, p. 200.

⁽²⁾ CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN [30], *C. R. Soc. Biologie*, XXXVIII, 1923, p. 779.

⁽³⁾ KOFMAN [86], « Signe électrique des microbes », *Thèse médecine*, Lyon, 1927.

si consciencieusement étudiées par LASSEUR ⁽¹⁾, dès 1921, puis par lui et ses collaborateurs à partir de 1928, se sont montrés chargés négativement, comme GOVAERT ⁽²⁾ l'a constaté pour le *B. coli*.

Existe-t-il deux sortes de microbes, les uns électronégatifs et quelques autres électropositifs, ou bien les conditions d'expérience sont-elles différentes ?

COTTON et MOUTON précisent les conditions dans lesquelles on doit procéder à l'examen microscopique pour être sûr du sens du déplacement. Il faut mettre au point sur la couche centrale de la préparation, car au contact des parois, le transport se fait en sens inverse.

Conditions de l'examen électrophorétique ; résultats.

TEAGUE et BUXTON ⁽³⁾ en 1907 reprennent le tube en U de Bechhold, en lui adjoignant deux étranglements, destinés à faire plonger les électrodes dans l'eau pure, et à diminuer ainsi les effets d'électrolyse. Dans ces nouvelles conditions les bactéries se dirigent vers l'anode, même celles qui sont chargées d'agglutinine ; il n'y a plus précipitation entre les deux électrodes.

A leur suite, de nombreux auteurs se sont servis de tubes analogues pour étudier le signe électrique de maints virus : TODD ⁽⁴⁾ imagine un appareil à trois branches avec électrodes impolarisables et solution de gélose chlorurée. KLIGLER et OLITZKI ⁽⁵⁾ font « Cataphorèse experiments with typhus virus » ; ils trouvent que, dans une émulsion de pH 6 à 8,6, ces virus sont négatifs. Louis MARMIER et Victor GRYZEZ ⁽⁶⁾ ont préparé par

⁽¹⁾ LASSEUR et JOUFFROY : [91], *Trav. Lab. Microbio. Fac. Pharm. Nancy*, 1928 ; — [92], *Id.*, 1929-1930.

LASSEUR, DUPAIX et FRIBOURG [98], *id.*, 1934.

⁽²⁾ GOVAERT [66], *C. R. Soc. Biologie*, LXXXIII, 1920, p. 197.

⁽³⁾ TEAGUE et BUXTON [165], *Z. physik. Chem.*, LVII, 1907, p. 47-76.

⁽⁴⁾ TODD [168], *Brit. J. exp. Path.*, VIII, 1927, p. 369.

⁽⁵⁾ KLIGLER et OLITZKI [84], *Brit. J. exp. Path.*, XII, 1931, p. 69.

⁽⁶⁾ L. MARMIER et V. GRYZEZ [111], *C. R. Soc. Biol.*, CVII, 1931, p. 317.

cataphorèse un bactériophage purifié : ils le reçoivent sur de la gélose placée à l'anode ou dans une bougie dont l'intérieur est relié à l'anode par un tube d'eau salée ; en opérant à pH 7 le bactériophage se montre négatif. LÉPINE ⁽¹⁾ imagine un appareil en trident pour la cataphorèse des liquides virulents : dans ses expériences le virus encéphalitique est négatif. Par ce même procédé, il essaie, mais en vain, de rechercher avec LEVADITI ⁽²⁾ le virus poliomyélitique dans la moelle. Quant au virus vaccinal, il le trouve tantôt positif et tantôt négatif, à l'encontre d'OLITSKY et LONG ⁽³⁾ pour qui il fut négatif.

Mme Lina GUASTALLA ⁽⁴⁾ propose un tube à cataphorèse à 3 branches, dont la centrale contient la suspension et les latérales de la gélose à pH 7,9 : de cette façon est réalisée l'invariance du pH du milieu dans les zones anodique et cathodique. IRMENGARD SICHERT et MODROW ⁽⁵⁾ étudient la charge électrique du virus aphteux : ils le trouvent négatif entre pH 7 et 8,2, et il ne présente pas de zone isoélectrique. OLITZKI ⁽⁶⁾ constate que l'antigène H du proteus X_{19} est négatif pour pH 12 à 4,4, tandis que l'antigène D du même proteus X_{19} est négatif pour pH 12 à 3,4. Pour pH 4, il y a séparation. Pour FINDLAY ⁽⁷⁾, le virus de la variole aviaire est négatif entre pH 6,6 et 8 ; celui du sarcome de Rous est négatif entre pH 5,6 et 8. OLITZKI ⁽⁸⁾ revenant sur la charge des anticorps, signale que l'agglutinine antityphique est amphotère dans le sérum (point isoélectrique à pH 4). Séparée des protéines du sérum, elle devient négative ; il en conclut que la charge électrique d'un sérum immunisant est déterminée par ses protéines et non par ses anticorps.

⁽¹⁾ LÉPINE [100], *C. R. Soc. Biol.*, CIV, 1930, p. 760 ; CV, 1930, p. 282.

⁽²⁾ LEVADITI et LÉPINE [103], *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 34.

⁽³⁾ OLITZKY et LONG [126], *J. of exp. Med.*, I, 1929, p. 263.

⁽⁴⁾ Mme Lina GUASTALLA [74], *C. R. Soc. Biologie*, CVII, mai 1931, p. 509.

⁽⁵⁾ SICHERT I. et MODROW [157], *Centr. f. Bakterio.*, CXIX, 1930, p. 1.

⁽⁶⁾ OLITZKI [125], *Journ. of Immunology*, XXII, avril 1932, p. 251.

⁽⁷⁾ FINDLAY [58], *Brit. Journ. exp. Path.*, XI, juin 1930, p. 190.

⁽⁸⁾ OLITZKI [128], *Journ. of Immunology*, XXIV, juin 1933, p. 505.

NICOLAU et KOPCIOWSKA ⁽¹⁾ trouvent négatif le virus herpétique pour pH 7,8 à 6,8 ; le lapin immunisé ne possède pas de virus décelable par électrophorèse. Quant au virus de l'encéphalomyélite enzootique, les particules qui lui servent de support sont négatives de pH 7,4 à 6,6 ; à pH 5,6 elles sont positives et négatives.

Citons, dans le même ordre d'idées, les travaux de FIELD et TEAGUE ⁽²⁾, de FRIEDBERGER ⁽³⁾, de BANCROFT ⁽⁴⁾, d'Eugénie SORU ⁽⁵⁾, etc..., et la cellule à cataphorèse de BROWN et BROOM ⁽⁶⁾, avec électrodes de zinc et connexion électrique par tubes de gélose chlorurée.

Malgré de si nombreuses recherches que nous ne pouvons citer tout au long, il semble que l'accord ne soit pas encore intervenu sur la question du sens du transport électrique, et cela bien que de multiples expériences macroscopiques ou microscopiques avec dispositifs de dépolarisation aient été tentées. — Essayons maintenant d'expliquer ce phénomène.

Explication de l'électrophorèse.	A l'examen microscopique du transport, on a l'impression d'un glissement général du champ, comme l'écrivent COTTON et MOUTON, et l'on pourrait se demander si les particules en suspension ne seraient pas mécaniquement entraînées par le liquide. Mais l'emploi d'une cuve profonde et d'un tube en U contredisent cette hypothèse, comme l'ont expliqué les mêmes auteurs précédents. Il y a donc mouvement des particules par rapport au liquide qui les entoure. Tout se passe comme si elles étaient
--	--

⁽¹⁾ NICOLAU et KOPCIOWSKA : [121], *C. R. Soc. Biologie*, CVIII, 1931, p. 364 ; — [123], *id.*, CIV, 1930, p. 290.

NICOLAU, KOPCIOWSKA et CONSTANTINESCO [122], *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 1100.

⁽²⁾ FIELD et TEAGUE [57], *J. exp. med.*, IX, 1907, p. 222.

⁽³⁾ FRIEDBERGER et EISLER [61], *Centr. f. Bakt.*, XLIV, 1907, p. 695.

⁽⁴⁾ BANCROFT [5], *J. of exp. Zoology*, IV, 1907, p. 157.

⁽⁵⁾ Eugénie SORU [162], *Arch. roum. path. exp. et micro.*, I, 1928, p. 485.

⁽⁶⁾ BROWN et BROOM [13], *Brit. Journ. exp. patho.*, XIII, 1932, p. 324

chargées d'une certaine quantité d'électricité, ayant pour origine le phénomène d'électrisation de contact.

**Théories de la
charge électrique
des microbes.**

Ces granules en suspension ne sont pas isolés ; leurs charges sont neutralisées par des charges inverses provenant du milieu émulsionnant. Depuis les travaux d'HELMHOLTZ et LAMB, on admet que tout se passe comme si le corps chargé par contact était entouré d'une couche double continue (COTTON et MOUTON). Placée dans un champ électrique, la couche double se déchirerait et se reformerait à chaque instant ; la particule pourrait ainsi se déplacer.

Pierre GIRARD ⁽¹⁾ a eu le mérite d'attirer l'attention sur l'action des ions métalliques polyvalents sur la charge des microbes. Il abaisse et annule la différence de potentiel de la couche double en ajoutant à une émulsion bactérienne des ions La^{+++} , sous forme de nitrate de lantane. Il constate un abaissement et une annulation de la vitesse de déplacement, qui se traduit macroscopiquement par une diminution de stabilité, puis une floculation de la suspension. Il montre ainsi, avec AUDUBERT ⁽²⁾, comment dépend de la couche double électrique une caractéristique très importante du protoplasma : la tension superficielle. GREEN et HALVORSON établissent en 1924 que la stabilisation des suspensions bactériennes se ramène à l'énergie de surface.

Bref, la stabilité dépendant des charges électriques, chaque fois que l'on touchera à ces dernières, on modifiera la stabilité (SHEARER) ⁽³⁾, (COSTANTIN) ⁽⁴⁾. Il suffit pour cela d'introduire dans la suspension un électrolyte capable de fournir des ions

⁽¹⁾ P. GIRARD [62], *C. R. Soc. Biologie*, LXXXIV, 1921, p. 442.

⁽²⁾ P. GIRARD et AUDUBERT [63], *C. R. Ac. Sciences*, CLXVII, août 1918, p. 351.

⁽³⁾ SHEARER [154], *Pro. Cambridge Phil. Soc.*, XIX, 1919, p. 263 ; — [155], *J. Hyg.*, XXI, 1922, p. 77.

⁽⁴⁾ COSTANTIN [34], *C. R. Ac. Sciences*, CLVIII, 1914, p. 1171.

de signe inverse à celui de la particule considérée. En faisant progressivement cette neutralisation, on diminue la répulsion électrostatique entre chaque particule. Brusquement, au-dessous d'une valeur particulière de la charge, qui est le potentiel critique, les particules s'agglutinent en amas, mais leur charge n'est pas encore nulle : les granules sont suffisamment rapprochés pour que jouent les forces d'attraction moléculaire. En continuant la neutralisation, on arrive au point isoélectrique : la charge des granules s'est annulée (NORTHROP ⁽¹⁾ et DE KRUIF ⁽²⁾ et FREUND ⁽³⁾). Cependant, SCHIBLEY ⁽⁴⁾ en 1924 remarque que les sérums agglutinants neutralisent les bactéries, et que l'agglutination peut se produire même sans réduction sensible de la charge. Ceci est une autre question qui nous amène à rechercher la cause première de la charge électrique.

Quelle est l'origine de cette charge ?

Origine de cette charge. Pour PERRIN, la charge proviendrait d'une adsorption d'ions : la surface de la particule aurait adsorbé des ions de même signe, par exemple dans l'eau, des ions H^+ ou OH^- et aurait acquis la charge de ces ions. Ceci semble se passer pour les suspensions de granules solides.

Lorsque, au contraire, il s'agit d'une émulsion de deux liquides non miscibles, et qu'on a par conséquent, deux phases liquides en présence l'une de l'autre, la charge relèverait d'une répartition inégale des ions dans les deux liquides.

Enfin, troisième hypothèse, qui, à priori, semble ne pas devoir s'appliquer aux suspensions microbiennes, l'on peut avoir affaire à un colloïde électrolytique, qui, tel un électrolyte, se dissocie en deux ions inégaux dont l'un représente le colloïde ou le gra-

(1) NORTHROP [118], *J. gen. Physiology*, IV, 1921-22, p. 629-639.

(2) NORTHROP et DE KRUIF [120], *J. gen. Physiology*, IV, 1922, p. 639-655 ; V, 1922, p. 127-605.

(3) NORTHROP et FREUND [119], *J. gen. Physiology*, VI, 1923-24, p. 603.

(4) SCHIBLEY [150], *J. exp. méd.*, XI, 1924, p. 453.

nule, et l'autre un petit ion (H^+ , Na^+ , Cl^- ...); le phénomène de l'électrophorèse se réduit alors à une simple électrolyse, dont le déplacement de certains ions peut, à cause de leur grosseur, être suivi au microscope.

Des facteurs dont est fonction la charge.	Ce très rapide exposé des notions antérieurement acquises montre que la charge électrique des microbes est une propriété générale des suspensions. Elle est fonction du pH du liquide émulsionnant, par conséquent de la nature même de ce liquide; elle varie avec le milieu de culture qui fournit des ions de différentes valences, elle est fonction de l'âge des suspensions et des cultures, ainsi que l'ont montré ROCHAIX, LASSEUR, etc...
--	--

D'autre part, l'étude des phénomènes d'agglutination a montré aux auteurs précédents que certains microbes pouvaient être caractérisés par leur point iso-électrique et leur différence de potentiel critique, comme ils le sont par leurs réactions biochimiques et leur façon de se développer sur les milieux de culture.

Or, lorsque nous déterminons la charge électrique d'une plasmide bactérienne par l'électrophorèse, nous mesurons le nombre de charges élémentaires (ou d'ions) que cette dernière a fixés au dépens du liquide de suspension. Par conséquent, pour une dissociation électrolytique déterminée de ce liquide, le nombre de charges fixées devrait, semble-t-il, varier avec la concentration en germes (diminuer pour une augmentation de la concentration, et inversement), d'où variation consécutive du pH avec la concentration, à moins que l'accroissement de la concentration du gros ion ne provoque au contraire une dissociation nouvelle du complexe gros ion (microbe) — ion ordinaire, à supposer qu'il existe —, à la manière d'un équilibre chimique suivant la loi de GULBERT et WAAGE. Mais cela supposerait que le microbe en suspension ressemble au colloïde électrolytique formé de deux ions, l'un énorme (le germe lui-même), l'autre

très petit (un anion quelconque) dont la dissociation est rendue manifeste par l'électrophorèse.

En définitive, nous sommes logiquement amenés à étudier en fonction de la concentration en germes, la vitesse de transport (que l'on pourrait penser proportionnelle à la charge), la conductibilité électrique et le pH des suspensions. Autant de problèmes qui, jusqu'à présent, sont restés sans solutions, ou qui, du moins, n'ont été posés explicitement par aucun auteur, si l'on en juge par l'absence complète de travaux ayant ce sujet pour but unique.

Pourtant, on a déjà songé à caractériser un germe quelconque par son point isoélectrique dans l'échelle des pH (YAMAHA, 1933) ⁽¹⁾, par sa bande de floculation. YAMAHA et ABE ⁽²⁾ constatent en effet que le staphylocoque doré est négatif de pH 4,9 à 3,5 et qu'il est positif de 3,3 à 3 (il floccule à 3,5), le pseudodiphthérique est négatif jusqu'à pH 1,6, le gonocoque jusqu'à 2,4, le subtilis jusqu'à 3,9.

SCHIBLEY ⁽³⁾ montre que la mobilité électrophorétique est proportionnelle au pH (elle est d'autant plus grande que la suspension est plus alcaline); le point isoélectrique est aux environs de 4,5. D'autre part, la vitesse varie aussi avec l'âge de la culture (de 5 à 10 heures, la vitesse croît, passe par un maximum, décroît légèrement jusqu'à la 15^e heure, puis tend vers une constante). L'on a été amené à construire une courbe représentant les variations de la vitesse de transport (proportionnelle à la charge, donc à la stabilité) en fonction du pH : $e = f(\text{pH})$. C'est ainsi que WINSLOW et Elisabeth FLEESON ⁽⁴⁾ ont établi

⁽¹⁾ YAMAHA, [182], *Arch. phys. biolog.*, X, n° 2, mars 1933.

⁽²⁾ YAMAHA et S. ABE [181], *Science Reports of the Tokyo brurika Daigaku*, avril 1934.

⁽³⁾ SCHIBLEY [150], *J. exp. med.*, XL, 1924, p. 453.

⁽⁴⁾ WINSLOW et E. FLEESON [179], *Journ. of. gene. Physiology*, VIII 1926, p. 195.

une courbe indiquant les valeurs de la vitesse électrophorétique en μ /sec, lorsque le pH varie : Pour les suspensions microbiennes aqueuses, la courbe est régulière et le maximum a lieu vers la neutralité ; pour les suspensions en eau salée, la courbe est irrégulière. Ils étudient également la vitesse en fonction de la concentration, non en germes, mais en électrolytes ; pour Cl Na la vitesse est à peu près la même pour toutes concentrations ; pour $\text{Cl}^3 \text{Al}$, à une concentration déterminée (10^{-4}) la vitesse s'annule, puis change de sens lorsqu'on ajoute du $\text{Cl}^3 \text{Al}$. Ils démontrent ainsi graphiquement le rôle des ions multivalents positifs, dans le renversement du signe de la charge des microbes. LASSEUR et ses collaborateurs se sont souvent attaqués à ces problèmes au cours de leurs importantes recherches sur l'agglutination sérique des bactéries. Avec FRIBOURG ⁽¹⁾ il montre que la vitesse de transport varie très peu avec la concentration de la suspension, avec l'âge de la culture et la présence d'électrolytes du milieu de culture. Il signale d'autre part qu'il faut prendre la précaution de faire l'électrophorèse à pH 7, sinon dans les régions plus acides ou plus alcalines la vitesse de transport varie. Avec Mlles DUPAIX et RENAUX ⁽²⁾ il montre que l'opacité des suspensions bactériennes est fonction du pH (par exemple il y a éclaircissement à pH 12). Il signale (avec Mlle DUPAIX, FRIBOURG et OLIVIER) ⁽³⁾, la théorie de HIRSCH ⁽⁴⁾ (1922) : cet auteur admet que les bactéries existent dans l'eau salée sous deux formes : 1^o une partie dissoute est à l'état de solution vraie ; elle s'ionise et donne une réaction alcaline ; 2^o une partie reste à l'état de suspension ; en mettant des bactéries dans l'eau salée

⁽¹⁾ LASSEUR et FRIBOURG [92], Trav. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1928-29-30.

⁽²⁾ LASSEUR, Mlle DUPAIX et RENAUX [97], Trav. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1934.

⁽³⁾ LASSEUR, Mlle DUPAIX, FRIBOURG et OLIVIER [93], Trav. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1929.

⁽⁴⁾ HIRSCH [80], *J. of infect. diseases*, XXX, 1922, p. 259.

neutre, le pH passe de 7 à 8,25 ce qui montre une alcalinisation très nette.

Conductibilité. LASSEUR et NOBLAT ⁽¹⁾ ont étudié la conductibilité électrique des suspensions microbiennes : ils constatent qu'en partant d'une suspension provenant du raclage d'une culture sur gélose, émulsionnée dans de l'eau, la conductibilité diminue avec les lavages successifs ; les électrolytes proviennent du verre, du milieu de culture, des corps microbiens (par diffusion dans le liquide dispersif) ; l'emploi d'une solution saccharosée isotonique ne diminue pas sensiblement la perte d'électrolytes des plastides vivantes. Mais l'usage des solutions renfermant plusieurs sels (comme le liquide de RINGER) permettrait de modifier l'allure du flux allant de la plastide au liquide dispersif. Il semblerait résulter de ces expériences que la conductibilité serait due surtout sinon uniquement aux électrolytes provenant du milieu de culture ou diffusés par les plastides. C'est cette dernière considération qu'envisage SHEARER ⁽²⁾, lorsqu'il étudie la perméabilité du coli et du ménin-gocoque par la conductibilité ; de même CALUGAREANU et V. HENRI (1902), à propos de la perméabilité des globules rouges. COPLANS ⁽³⁾ montre que dans la fixation de l'agglutinine, la conductibilité commence par augmenter, devient maxima au bout de 2 minutes, puis décroît. Mais aucun de ces auteurs n'envisage une étude de la conductibilité en fonction de la concentration de la suspension. BÉGUET ⁽⁴⁾ étudiant le mécanisme de l'agglutination des mélitensis, et après avoir signalé que la floculation augmente avec l'ionisation du liquide de suspension, avec la température, ajoute : « Chaque fois qu'on met en sus-

⁽¹⁾ LASSEUR et NOBLAT [94], Trav. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1928.

⁽²⁾ SHEARER [154], *Pro. Cambridge Phil. Soc.*, XIX, 1919, p. 263.

⁽³⁾ COPLANS [33], *Journ. Path. and Bact.*, XVII, 1912-13, p. 130.

⁽⁴⁾ BÉGUET [7], *C. R. Ac. Sciences*, CLXXXIII, juillet 1926, p. 323.

pension un Brucella, une substance particulière passerait en partie dans le liquide à la faveur d'un équilibre de membrane et servirait à produire la floculation. » En somme, sans employer explicitement le terme de conductibilité, cet auteur admet un échange entre la plastide bactérienne et le liquide dispersif, ce qui entraîne une augmentation de la conductibilité. SIERAKOWSKI et LECZYCKA ⁽¹⁾ ont eu l'idée de mesurer la conductibilité des cultures microbiennes en milieux liquides : ils observent une augmentation de la conductibilité qui paraît être en rapport avec la désagrégation des corps bactériens. RIMATTÉI ⁽²⁾ précise les conditions de mesure des conductibilités et détermine celle de quelques sérums. GUEBEN et DE RASSENFOSSE ⁽³⁾ améliorent la technique des mesures des conductibilités des milieux polarisables en adoptant un oscillateur de haute fréquence et une réception en haut parleur.

Aperçu des recherches à effectuer. En résumé, d'après tout ce qui précède, il ne nous a pas semblé qu'on se soit préoccupé de l'ensemble des propriétés électriques nouvelles apportées par le germe lui-même dans le liquide de suspension, et en particulier dans l'eau bi-distillée. Nous n'avons trouvé nulle part une étude systématique expérimentale des charges électriques de microbes et de leurs diverses manifestations par les propriétés telles que le transport, la conductibilité, le pH en fonction de la concentration de la suspension : en d'autres termes, ce que nous voudrions avoir, c'est tout un groupe de fonctions :

$$\begin{aligned}e &= f(N) \quad \sigma = f'(N) \quad \text{pH} = f''(N) \\e &= \varphi(\text{pH}), \text{ etc...},\end{aligned}$$

⁽¹⁾ SIERAKOWSKI et LECZYCKA [158], *Centr. f. Bakterio.*, CXXVII 1933, p. 486.

⁽²⁾ RIMATTÉI [141], « Conductibilité électrique de quelques sérums », *Thèse médecine*, Marseille, 1931.

⁽³⁾ GUEBEN et DE RASSENFOSSE [75], *Arch. Phys. biolog.*, juillet 1930, p. 103.

dont l'ensemble nous permette de définir un microbe ou un genre bactérien ou une famille entière ou un groupe seulement. Ce n'est qu'après avoir établi expérimentalement un certain nombre de ces courbes représentatives de fonctions, que nous essaierons de voir si les théories précédemment admises suffisent à expliquer la marche de ces phénomènes. S'il en faut édifier une nouvelle, nous ne le ferons qu'avec grande circonspection, car nous ne devons pas oublier que nos gros ions sont des êtres vivants, et qu'il est vain de croire possible, dès aujourd'hui, l'application aux bactéries des lois immuables de l'électro-chimie et de la physique atomique.

Différenciation des types microbiens entre eux, par leurs propriétés électriques. Beaucoup plus récentes que l'électrophorèse, puisqu'elles ne datent que de cinq années environ, sont les expériences qui ont pour objet la différenciation des divers types d'un même germe, par leurs propriétés électriques. Ce qui devait en premier lieu attirer l'attention des auteurs, c'était bien l'étude des colonies R et S d'un même microbe ; dès 1930 DAMBOVICEANU ⁽¹⁾ leur assigne une charge négative, en ce qui concerne les colonies R et S des bacilles de Shiga, de l'Eberth, de l'Aertrycke ; mais la charge des plastides de S est plus petite que celle de R ; après chauffage pendant une heure à 57°, la charge de R reste constante tandis que celle de S augmente et tend vers celle de R ; il note encore que les germes de R s'agglutinent lorsque le pH descend à 2 ou 4 et que d'autre part le sel les fait flocculer à pH 7. Dans un milieu isotonique de saccharose pauvre en phosphates, de pH 7, la charge de S est 15 fois plus petite que celle de R : voilà un premier résultat particulièrement intéressant.

Eugénie SORU ⁽²⁾ parvient à distinguer, à l'aide d'un tube de

⁽¹⁾ DAMBOVICEANU [39], *C. R. Soc. Biol.*, CIII, 1930, p. 633.

⁽²⁾ Eugénie SORU [163], *C. R. Soc. Biol.*, CXV, 1934, p. 1319.

Michaëlis (à électrophorèse à 3 branches), 3 groupes de vibrions cholériques (elle opère sur une culture de 6 h. sur gélose, mise en suspension dans 5 cc. de sérum physiologique, pH 7,2, auquel elle ajoute 0 gr. 09 de saccharose ; différence de potentiel 80 volts) : 1^{er} groupe : vitesse de $3,14 \times 10^{-4}$ à $1,62 \times 10^{-4}$; 2^e groupe : $1,50 \times 10^{-4}$ à $1,04 \times 10^{-4}$; 3^e groupe : 3×10^{-4} à $1,56 \times 10^{-4}$. Mais il n'y a aucune relation entre les valeurs de ces vitesses et la classification en vibrions cholériques authentiques et paracholériques. Un fait cependant, retient l'attention, c'est que les germes de vitesses $3,14 \times 10^{-4}$ à $1,6 \times 10^{-4}$ agglutinent avec la trypaflavine ; ceux de $1,50 \times 10^{-4}$ à $1,04 \times 10^{-4}$ n'agglutinent pas avec la trypaflavine, et les autres (de 3 à 1,56) font une agglutination partielle.

KAHN et SCHWARZKOPF ⁽¹⁾ trouvent des différences de déplacement électrophorétique entre les colonies R et S du bacille tuberculeux du type aviaire et du type bovin, mais pas avec le type humain ; ils notent aussi des différences de vitesse de déplacement suivant l'âge de la culture, ce qui restreint quelque peu la portée des résultats précédents.

Mlle CHOUCROUN et Harry PLOTZ ⁽²⁾ constatent eux aussi des différences entre les électrisations des diverses variétés de bacilles de Koch mis, sans lavage, en suspension dans de l'eau physiologique de pH 7,2 : tout d'abord, la mobilité des germes des colonies R est plus grande que celle de S, ce qui est en parfait accord avec les résultats des auteurs précédents ; comme la virulence des colonies R est plus grande que celle des colonies S (ordinairement peu virulentes), ils croient pouvoir admettre que l'électrisation est d'autant plus importante que la virulence est plus grande.

⁽¹⁾ KAHN et SCHWARZKOPF [82], *Amer. Rev. of Tuberc.*, XXIII, janv. 1931, p. 45.

⁽²⁾ Mlle CHOUCROUN et Harry PLOTZ [28], *C. R. Ac. Sc.*, CXCIX, 9 juillet 1934, p. 165.

FALK et JENSEN ⁽¹⁾, dans un important travail sur l'électrophorèse des *Corynebacterium*, mettent également en lumière une différence de mobilité entre le bacille diphtérique virulent et toxigène, et les bacilles diphtérimorphes (de HOFFMANN et cutis communis), avirulents et non toxigènes : mais à l'inverse des auteurs précédents, ils trouvent que les *corynebacterium* les moins toxigènes sont les plus chargés électriquement et ils établissent ainsi une méthode de diagnostic basée sur les vitesses différentes que prennent les *corynebacterium* dans le champ électrique ; ces résultats ont été retrouvés par SEIGNEURIN ⁽²⁾ qui a introduit ce procédé en France. Mlle CHOUCROUN et Harry PLOTZ montrent en outre que, dans leurs expériences, la mobilité des souches R des bacilles de Koch est variable avec l'âge de la culture, tandis que celle des souches S est la même quel que soit l'âge de la culture et quelle que soit leur origine.

Cette dernière considération appliquée aux *Brucella*, avait déjà été étudiée, il y a deux ans, par LISBONNE et R. SEIGNEURIN ⁽³⁾ : ils ont en effet montré que la vitesse de transport électrique permet de classer ces germes non pas d'après leurs caractères intrinsèques en *melitensis* et *abortus* comme les méthodes biochimiques de HUDDLESON, mais suivant l'espèce animale dont ils proviennent. Celle-ci imprime sur eux un cachet de spécificité qui se traduit par une mobilité différente. Ainsi les germes isolés de la vache (qu'ils soient *brucella melitensis* ou *brucella abortus*) se distinguent par une mobilité double environ de ceux isolés de l'homme (*melitensis* ou *abortus*) ; les *brucella caprins* ont une vitesse égale aux *brucella humains* ; les ovins ont une mobilité bien inférieure. Ils apportent ainsi une preuve expérimentale, de l'imprégnation intime des germes par l'organisme vivant qui les a hébergés.

⁽¹⁾ FALK et JENSEN [52], *J. of Bacteriology*, XV juin 1928, 367, 413, 421.

⁽²⁾ SEIGNEURIN [152], *Bull. Soc. Sc. méd. Montpellier*, mars 1935.

⁽³⁾ LISBONNE et SEIGNEURIN [106], *C. R. Ac. Sciences*, CXCVI, 1933, p. 1747.

Dorothea SMITH et Eléonore JOFFE ⁽¹⁾ par contre, concluent de leurs expériences, à l'impossibilité, d'après la mobilité, de répartir le brucella dans un groupe déterminé ; dans l'ordre des vitesses croissantes on trouve le bovin, le porc et le caprin.

Walter KROSS et Margarete ZUELZER ⁽²⁾, après avoir fait une étude très détaillée de la théorie et de la technique de l'électrophorèse, concluent que les spirochètes sont négativement chargés, et qu'il existe des charges différentes pour différentes souches.

En résumé, des travaux précédents, se dégage le fait que les colonies R et S ont des charges différentes, et que celles-ci d'autre part, sont caractéristiques, du point de vue de leur origine, de l'espèce animale considérée.

ROSENOW ⁽³⁾ s'est demandé si le tropisme électif de certains germes pour tel organe déterminé, n'était pas en rapport avec une charge électrique particulière. Opérant sur des streptocoques, il constate que la mobilité correspond à une affinité pour un organe déterminé : ainsi les souches arthrotropes, neurotropes, rhinotropes, bronchotropes..., se distinguent les unes des autres par une vitesse de cataphorèse différente ; chose remarquable, le sérum des malades atteints d'arthrite infectieuse a la propriété spécifique de ralentir la vitesse de transport des streptocoques isolés de ces arthrites, et qui présentent en outre une vitesse d'électrophorèse arthrotrape.

* * *

L'ensemble de ces recherches mettent en lumière un phénomène nouveau : le tropisme électif pour chaque organe des variétés d'un même germe correspond (nous ne disons pas : a pour cause) à une charge électrique différente ; de même que les souches R et S d'un même genre ont chacune leur charge

⁽¹⁾ D. SMITH et E. JOFFE [159], *J. of Bacterio*, XXVIII août 1934, p. 127.

⁽²⁾ Walter KROSS et M. ZUELZER [174], *Central f. Bakterio*, CXXXVI, n° 280, 1932, p. 360.

⁽³⁾ ROSENOW [142], *Arch. of intern. med.*, LI, n° 3, Chicago, mars 1933.

respective ; de même que la spécificité d'électivité sur un organe appelle l'existence d'une charge caractéristique, toujours la même pour un même germe et sur un même organe ; de même encore « le souvenir organique » de son origine animale est gravé, sur un germe donné, par sa charge particulière et définitive.

Ces modifications d'ordre électrique n'ont-elles aucune répercussion sur les réactions de coloration, telles que la méthode de GRAM ? BURKE et GIBSON (1) l'ont étudié ; ils renversent le signe de la charge sans inverser la réaction de GRAM, et démontrent ainsi qu'il n'y a pas de relations entre la réaction de GRAM et la charge électrique.

Si le finalisme en biologie était encore de mise, nous pourrions avancer — CANTACUZÈNE, SORU et VLÈS (2) nous l'apprennent — que l'urne et les éléments du sang de *Sipunculus nudus* sont positifs afin de pouvoir adsorber ou engloutir les éléments étrangers qui sont négatifs, les phagocytes observant la neutralité ; nous pourrions expliquer également le mécanisme de l'accrolement de l'épiploon aux portions lésées de la cavité péritonéale de la même façon. DAMBOVICEANU (3), d'ailleurs, opérant sur le sang d'*Hélix pomatia* par cataphorèse sur chaîne de Michaelis, constate que les globulines sont positives alors que le pigment bleu qui s'y fixe est négatif comme les pseudoglobulines. On pourrait trouver maints exemples de ces charges de sens contraire d'éléments qui s'adsorbent. Ces études ne sont-elles pas, en effet, le prélude des recherches sur les virus filtrants, éléments adsorbés sur un support visible ou errant ignorés dans un liquide filtré ? GUARDABASSI (4) s'est beaucoup attaché à cette question passionnante de l'électrophorèse des ultra-virus : après cataphorèse du bactériophage antishiga, il constate que l'activité

(1) BURKE et GIBSON [16], *Journ. of Bacteriol.*, XXVI, n° 2, août 1933, p. 211.

(2) CANTACUZÈNE et VLÈS [21], *C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 1155.

(3) DAMBOVICEANU [41], *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIX 1923, p. 261.

(4) GUARDABASSI [69...], *La Diagnosi*, An. XIV, fasc. 3, giugno 1934.

du liquide cathodique est supérieure à celle du liquide anodique ; il a l'idée — que LASSEUR a, de son côté, largement employée ces derniers temps, — d'utiliser le papier filtre pour séparer les divers constituants d'un liquide : les particules colloïdales ou invisibles remontent le papier filtre que l'on y plonge, si leur charge est de même signe ; enfin, il se sert aussi de l'électrophorèse pour l'isolement du virus tuberculeux du sang humain, et le liquide anodique tuberculise le cobaye.

Pierre GIRARD et Marguerite LOURAU ⁽¹⁾ font l'électrophorèse des sérums hémolytiques : au cours d'une même expérience, ils comparent les déplacements dans un champ électrique des ions d'un même sérum et de l'anticorps ; ils sont amenés à dire que l'hémolysine est une substance matérielle ; ce n'est pas une protéine, mais un ion dont le point iso-électrique est 6,2 ; la mobilité de l'ion hémolysine est très inférieure à celle de l'ion protéine, elle-même aussi très inférieure à celle de l'ion chlore (pour un pH suffisamment loin des points iso-électriques respectifs).

* * *

Au terme de l'énumération de cette longue série d'auteurs et de travaux relatifs à l'électrophorèse et au potentiel critique des bactéries et des germes invisibles, il nous semble qu'il eût été judicieux d'essayer de différencier les microbes par « l'ensemble » de leurs propriétés électriques. On n'a seulement fait état d'une seule propriété particulière (mobilité électrophorétique, conductibilité, floculation par le pH, opacité...) permettant d'inscrire un nouveau caractère à l'état civil d'un germe donné. Mais l'ensemble de ces propriétés, qui pourtant sont fonctions les unes des autres, n'a pas été envisagé. Ne pourrait-on point considérer le microbe comme l'élément primordial d'une phase dispersée, apportant par sa structure physique

⁽¹⁾ P. GIRARD et Mlle LOURAU [64], *C. R. Ac. Sciences*, CXCVIII 12 mars 1934.

encore loin d'être précisée, par les phénomènes électifs dont il peut être le siège, une charge électrique particulière ?

Ne pourrait-on pas avancer en outre que cette charge est placée sur un être de dimensions telles qu'en dépendent toutes les propriétés de ses suspensions ? C'est l'ensemble de ces propriétés particulières dont l'origine immédiate est la charge électrique, que nous allons tenter d'étudier et de synthétiser, en nous appuyant à la fois sur la théorie et l'expérimentation.

DES PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

Osmose et transport électrique des particules en général.

Considérons la surface de séparation de deux phases distinctes, constituées l'une par un milieu solide, le verre par exemple, l'autre par un liquide contenant des électrolytes dissociés. La phase liquide a la propriété de modifier sa composition au voisinage de sa surface de contact ou interface : tout se passe comme si la phase solide provoquait au voisinage et le long de l'interface un arrangement spécial, un collage des molécules ou des ions de la phase liquide en contact avec elle. Ce phénomène purement superficiel, appelé phénomène d'adsorption, et régi par des lois (GIBBS, FREUNDLICH) bien établies, va donner à l'interface considérée des caractères spéciaux dûs à ce que les ions fixés sont porteurs d'une charge électrique. Mais le collage de ces ions n'est pas quelconque : la paroi opère une sélection entre eux, et tout revient à ceci que la paroi se trouve tapissée de charges électriques de même signe, donc chargée d'une certaine quantité d'électricité, comme le plateau d'un condensateur relié aux bornes d'une batterie.

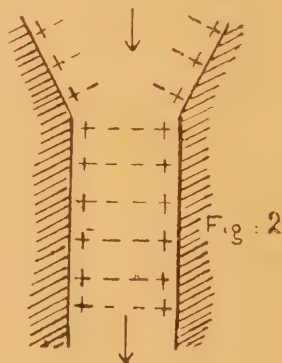
Cette accumulation régulière de charges de même signe sur l'interface, amène la disparition de ces mêmes charges dans la région immédiatement avoisinante, qui se trouvera, par cela même, uniquement constituée de charges de signe contraire ;

en résumé, sur l'interface se trouvent fixés des ions de même signe qui font désormais partie d'elle-même, et en regard de la paroi ainsi chargée électro-statiquement, se trouvent des ions de signe inverse qui peuvent être déplacés avec le liquide et qui font partie de ce liquide (fig. 1). Quelques exemples empruntés aux manipulations courantes vont nous permettre de juger les énormes répercussions de ce simple phénomène.

Envisageons tout d'abord un tube capillaire reliant deux vases contenant une solution d'électrolytes dissociés. Les parois intérieures du tube adsorbent certains ions (par exemple les cations) et acquièrent une charge positive. Le liquide devient donc plus riche en anions. Si le liquide s'écoule à travers le tube, il entraîne avec lui ces charges négatives (fig. 2) et il apparaît entre



Fig. : 1



l'entrée et la sortie du tube une différence de potentiel, due à l'écoulement du liquide.

Supposons maintenant une infinité de petits tubes capillaires agglomérés : une membrane filtrante (bougie de porcelaine, sac de collodion, papier filtre...). Chaque pore de la paroi poreuse va se charger d'une certaine quantité d'électricité, et de chaque côté de la membrane naîtra une force électromotrice de filtra-

tion. C'est le signe de la charge de ces pores qui facilitera ou empêchera le passage d'ions ou de particules de signe différent ou non, et chacun connaît la profusion de recherches qui ont été effectuées sur ces phénomènes de filtration.

Si, cette fois, nous soumettons les deux faces de la paroi poreuse à une différence de potentiel, nous déterminerons un mouvement mécanique du liquide à travers elle : c'est l'osmose électrique. Comme la colonne liquide qui se déplace est plus riche en anions qu'en cations, la concentration en ions H^+ change de chaque côté de la paroi et l'on peut avoir des différences notables de pH.

Enfin, considérons une suspension de particules dans une solution d'électrolytes ; chacune d'elles va adsorber des ions, comme le ferait une paroi solide quelconque ; dès le moment où l'on établit entre deux électrodes plongées dans le liquide une différence de potentiel, on assiste à un déplacement des particules (un transport électrique) et à leur accumulation à un pôle : c'est l'électrophorèse.

Charge et stabilité des suspensions biologiques.

Considérons d'abord des particules colloïdales : placées dans un champ électrique elles se transportent vers l'un des pôles, et l'on constate que certaines d'entre elles vont vers l'anode (hydrosols de platine, d'or, d'argent, ferro-cyanure de cuivre...), tandis que d'autres vont vers la cathode (hydroxydes métalliques). Les particules se conduisent donc là encore comme si elles étaient chargées. Comme le liquide, dans son ensemble, est électriquement neutre, il doit exister, à côté des granules chargés, des charges équivalentes de signe inverse dont on n'entrevoit pas le support. On peut supposer que la charge qui neutralise

le granule est dans son voisinage immédiat. COTTON et MOUTON ont appelé « granule » la particule visible chargée d'électricité, et « micelle » l'ensemble formé par le granule chargé et par ce qui le neutralise.

L'électrisation des particules peut donc être rattachée à l'électrisation par contact, et leur transport n'est pas un phénomène distinct de l'osmose électrique. PERRIN a montré aussi que le signe des charges acquises par contact dépend surtout de la nature du liquide.

L'existence de ces charges donne aux particules qui les portent la propriété de former une suspension stable : cette stabilité est créée principalement par la répulsion électrostatique qui s'exerce entre les charges de même signe portées par les particules voisines. Par conséquent la stabilité sera modifiée chaque fois que l'on touchera à l'intégrité des charges. La neutralisation partielle ou totale des charges portées par une particule peut s'effectuer facilement, en introduisant dans la solution des électrolytes pouvant fournir des ions de signe inverse. Supposons que nous ayons des particules chargées négativement après adsorption d'ions OH^- ; l'addition d'un acide dilué, c'est-à-dire d'ions H^+ , neutralisera la charge négative des particules. Si l'on fait lentement cette neutralisation, le pH diminue progressivement, ainsi que la répulsion électrostatique entre les différentes particules ; au-dessous d'une certaine valeur de la charge (potentiel critique), la stabilité change brusquement : les particules au lieu de se repousser, se collent les unes aux autres, et s'agglutinent en amas floconneux tombant au fond du vase. En effet, en diminuant autour de chaque particule sa zone de répulsion électrostatique $F = f\left(\frac{1}{d^2}\right)$, nous avons permis aux particules d'arriver assez près les unes des autres pour que jouent des forces d'attraction moléculaire — $F' = f'\left(\frac{1}{d^4}\right)$ qui sont extrêmement intenses à faible distance (VLÈS). Si l'on continue

la neutralisation au delà du potentiel critique, il arrive un moment où la charge s'annule. La particule reste immobile dans le champ électrique : c'est l'état isoélectrique (fig. 3). Continuons à ajouter des ions H^+ : la charge va devenir de signe inverse

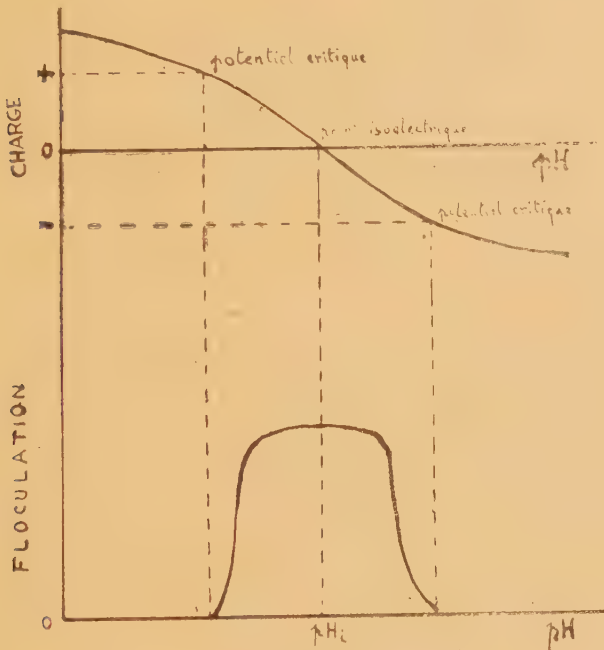


Fig. 3 (d'après Vilès)

POTENTIELS CRITIQUES de FLOCCULATION
EN FONCTION du pH

et les particules se remettent en suspension : tout se passe comme si les particules étaient capables d'adsorber une partie des ions nouveaux H^+ introduits, et d'acquérir une charge à leurs dépens.

Cette neutralisation peut s'effectuer aussi avec des ions métal-

liques mono, bi ou trivalents, ces derniers étant évidemment plus efficaces que les autres.

En résumé, les ions interviennent pour changer les caractères électrostatiques des interfaces, et c'est là un phénomène de première importance au point de vue biologique.

En effet, les suspensions de particules biologiques telles que hématies, protozoaires, spores, bactéries, jouissent des mêmes propriétés : les caractères relatifs à la charge et à la stabilité se retrouvent entiers. Certains auteurs ont même donné comme spécifique de chaque espèce de germes la position de sa bande de floculation et le pH caractéristique du point isoélectrique. Certaines bactéries peuvent même avoir plusieurs points isoélectriques ; elles se comportent en somme comme des ampholytes.

Bref, toute particule, biologique, vivante ou minérale, en suspension dans un liquide contenant des ions même en très petite quantité, a la propriété d'adsorber sur sa surface une certaine catégorie et un certain nombre d'ions, qui lui fournissent une charge électrique. Celle-ci est neutralisée par une charge inverse qui l'entoure. Dans les théories de HELMHOLTZ et LAMB sur l'osmose électrique, on admet que tout se passe comme si le corps chargé par contact était entouré d'une couche double continue. Celle-ci bordant la discontinuité des phases en contact, se comporte comme la charge des armatures d'un condensateur dont la discontinuité serait la diélectrique.

Soient : d la distance entre les deux moitiés de la couche double, σ la densité électrostatique de chaque couche, K la constante diélectrique du milieu formant la discontinuité, V la différence de potentiel entre les deux corps ; le théorème de POISSON donne : $V = 4 \pi \frac{\sigma d}{K}$.

Si les deux phases en contact sont l'une solide et l'autre liquide constituée d'une solution d'électrolytes, l'un des ions de ces derniers constitue la portion de la couche double bordant la

discontinuité du côté de l'électrolyte. Il s'ensuit une sélection et une répartition d'ions par couches successives, la première couche liquide voisine de la couche double ayant un signe inverse de la couche limite, la couche suivante étant au contraire plus riche dans l'autre sens mais moins importante, et ainsi de suite jusqu'à ce que l'on passe par atténuation progressive à la répartition statistiquement homogène des ions dans le liquide (Vrès).

Si, les hypothèses précédentes admises, l'on veut expliquer le déplacement d'une particule solide en suspension dans un liquide, on est conduit à admettre que la couche double se déchire et se reforme à chaque instant aux points où les actions électriques tendent à faire glisser en sens inverse la particule et le liquide qui l'entoure (fig. 4).

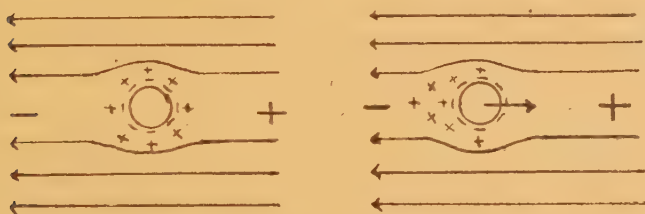


Fig. 4 - GLISSEMENT de la PARTICULE et
du LIQUIDE en SENS INVERSE

Pour ce qui est des colloïdes, on peut considérer le granule comme portant fixés sur lui des ions, en face desquels seraient maintenus des ions de signe contraire ; ces deux sortes d'ions correspondent aux feuillets de la couche double.

Lorsque le tout est placé dans un champ électrique, certains des ions extérieurs se détacheraient et seraient remplacés par d'autres issus du liquide intermicellaire ; ceux-ci se détacheraient à leur tour de la même manière et ainsi de suite. Les échanges qui en résultent entre la micelle et le liquide existeraient déjà

avant l'influence du courant qui ne ferait que les mettre en évidence. Son action ne serait donc pas sans analogie avec celle qu'il exerce dans l'électrolyse, le granule pouvant être comparé à un ion unique à charges élémentaires multiples dont la masse serait considérable vis-à-vis de la charge (COTTON et MOUTON).

Jusqu'ici, nous avons considéré une phase solide en contact avec une phase liquide constituée par des électrolytes dissociés. Envisageons maintenant le cas où les deux phases sont des solutions contenant toutes deux des ions. Faisons tout de suite remarquer que ce cas n'est pas si éloigné qu'il le paraît de nos suspensions de bactéries. Pouvons-nous en effet, considérer un microbe plongé dans un liquide ionisé comme un solide entouré d'ions, ou devons-nous laisser entendre qu'il représente une phase solide formée d'électrolytes, en contact avec la phase liquide ? Le problème est d'autant plus difficile à solutionner qu'une des phases (le germe) est en perpétuelle évolution ionique. Quoiqu'il en soit, lorsque deux phases en contact sont constituées par des solutions d'électrolytes dissociés, on constate, outre la couche double présentée précédemment, une différence de potentiel E entre les profondeurs des deux liquides : Il se fait un équilibre de répartition d'ions justiciables du théorème de NERNST, où la variable est le rapport des concentrations C_1 et C_2 de l'ion principal au sein des deux liquides :

$$E = \frac{R}{F} T \log \frac{C_1}{C_2}$$

R étant la constante des gaz, F un faraday, et T la température absolue. Ce partage des ions entre les deux liquides peut admettre pour origine une foule de causes parmi lesquelles la solubilité et les colloïdes interviennent pour une large part. Dans le cas des plastides bactériennes, le phénomène devient excessivement complexe, ne serait-ce qu'en envisageant seulement les équilibres de DONNAN ou autres qui interviennent de part et d'autre de leurs membranes, et les sécrétions, absorptions et excrétions qui ont lieu à tout instant de leur vie organique. Nous avons

vu dans l'étude historique, que FALK avait eu l'idée de rechercher sur des microbes d'une même famille des différences de mobilité suivant leur pouvoir toxigène et leur virulence. Voici la base théorique de ses travaux : un bacille toxigène laisse exsuder sa toxine à travers son enveloppe, et comme celle-ci peut être considérée comme une membrane semi-perméable laissant diffuser certains ions et non d'autres, il s'établit un équilibre de DONNAN entre la concentration C_1 de la toxine à l'intérieur du germe et la concentration C_2 de la toxine à l'extérieur. Ces concentrations différentes d'ions de même nature entraîneraient une différence de potentiel thermodynamique E entre le microbe considéré et son liquide de suspension. Placé dans un champ électrique uniforme, il en résulterait un déplacement dont la vitesse est proportionnelle à la grandeur de ce potentiel. Comme la formule de NERNST montre que le potentiel est proportionnel au rapport $\frac{C_1}{C_2}$, il en résulte que, pour un microbe

toxigène, ce rapport sera très petit, par suite la mobilité électrophorétique sera aussi très petite ; au contraire, pour un germe non toxigène, le rapport est très grand, d'où grande mobilité électrophorétique. Nous n'insisterons pas davantage sur cette séduisante hypothèse. Faisons remarquer toutefois que d'une part, elle fait intervenir un équilibre de DONNAN entre des ions inconnus tels que l'ion toxine, et que, d'autre part, elle suppose que la mobilité est uniquement due au potentiel thermodynamique alors qu'elle l'est aussi à la charge de l'interface que nous avons envisagée précédemment.

L'interface entre deux substances peut encore être le siège de charges d'une autre origine : les charges de valence des molécules de la paroi. En effet, atomes et molécules de la paroi peuvent sous des influences diverses se dissocier. Suivant leur valence, il en résulte une charge particulière et nouvelle, distincte des précédentes, et qui peut ne pas exister (existe-t-elle sur la paroi des microbes ?).

En résumé nous voyons que la surface de séparation de deux milieux électrolytiques est le siège de multiples charges électriques, qui ne sont pas équivalentes, ne s'appliquent pas dans les mêmes conditions, mais qui peuvent coexister dans un même système. On distingue (VLÈS) :

1° Le potentiel thermodynamique (NERNST) qui représente la différence de potentiel entre le sein des deux phases ;

2° Le potentiel électro-cinétique (ou électrophorétique) qui représente la différence de potentiel entre les charges fixées sur l'interface et celles mobiles et immédiatement avoisinantes du liquide ; c'est de ce potentiel que dépendent la stabilité des suspensions et l'électrophorèse. On peut le subdiviser en plusieurs portions :

a) la charge de floculation qui est celle dont l'annulation conduit le système au potentiel critique pour lequel il devient instable ;

b) le résidu de charge qui est l'ensemble des charges subsistant dans l'intérieur de la bande de floculation ; la somme de la charge de floculation et du résidu constitue la charge totale d'électrophorèse, qui s'annule au point iso-électrique.

Évaluation de la charge d'une particule.

Nous ne chercherons à déterminer que la charge électrocinétique (charge parcellaire) ; nous ne nous occuperons pas du potentiel thermodynamique qui exige, pour ses mesures potentiométriques, des dispositifs macroscopiques.

I. — Méthodes d'électrophorèse.

Elles consistent à déterminer la vitesse de transport des particules dans un champ électrostatique connu.

Nous avons vu que ce déplacement électrophorétique pouvait s'expliquer par la rupture de la couche double et sa reconstitution à chaque instant aux points où les actions électriques tendent à faire glisser en sens inverse la particule et le liquide qui l'entoure, et que ce n'est pas en tous les points de la surface de contact que ce glissement tend à se produire. Le problème se complique énormément dès que l'on abandonne les formes théoriques (cylindres très allongés disposés parallèlement au champ) pour envisager des formes quelconques de particules. Pour des particules sphériques par exemple, la résistance au mouvement résultant de la viscosité du liquide varie proportionnellement au diamètre. Cependant l'expérience montre que des particules de grosseurs très différentes se déplacent avec sensiblement la même vitesse dans un liquide donné. Or, si elles avaient la même charge, les plus grosses devraient avoir une vitesse inférieure, par suite de la résistance plus grande au déplacement. Comme les vitesses sont sensiblement égales, l'hypothèse que l'on pourrait faire est la suivante : la particule adsorbe un nombre d'ions proportionnel à sa surface, de telle sorte que les petites particules ont une faible charge et les grandes, une forte. La résistance au déplacement étant beaucoup plus importante pour les grandes surfaces, les vitesses tendent toutes vers la même valeur.

Mlle CHOUCROUN a montré que, dans l'électrophorèse, l'électrisation est constituée par la couche double : deux feuillets de densité σ , l'un adhérent à la paroi, l'autre mobile, situé dans le liquide à la distance d . Le moment électrique superficiel est donc σd . Le feuillet liquide se déplace dans le champ H à la vitesse $V_w = \sigma d \frac{H}{\eta}$, η étant la viscosité du liquide. Pour des sphérules : $\sigma d \frac{2H}{3\eta}$ est la vitesse propre qui s'ajoute algébriquement à celle du liquide environnant. La vitesse d'un point du liquide est : $V_w \left[\frac{3}{2} \left(a^2 - \frac{x^2}{a^2} \right) - 1 \right]$ en désignant par x : la

distance d'un point au plan médian, $2a$: l'épaisseur de la rainure de la cellule utilisée; la vitesse du liquide contre la paroi étant V_w et au milieu $-\frac{V_w}{2}$. L'eau aura une vitesse nulle au niveau $\sqrt{\frac{a}{3}}$.

a) *Méthode d'HELMHOLTZ-LAMB.* — On suppose que la vitesse d'une particule chargée est proportionnelle à sa densité électrique, au champ et inversement proportionnelle au frottement. On suppose en outre que la couche double permet de comparer la particule à un condensateur, dont la surface forme l'armature intérieure, et dont le diélectrique (séparant les deux moitiés de la couche double) serait petit par rapport aux dimensions du condensateur. On exprime sa charge et l'on suppose qu'il se transporte dans le champ comme si les charges d'un seul signe intervenaient dans le déplacement.

Soient H le champ, v la vitesse de transport, e la charge électrique, V la différence de potentiel entre les armatures, S la surface et β le coefficient de frottement solide-liquide; on a : $v = H \frac{e}{S \beta}$

et pour une sphère : $v = H \frac{e}{4\pi r^2 \beta}$

Capacité du condensateur : $C = K \frac{r^2}{d}$, d'où la charge :

$$e = CV = KV \frac{r^2}{d}$$

Donc $eH = KVH \frac{r^2}{d} = 4\pi r^2 \beta v$.

D'où la vitesse sera : $v = \frac{KVH}{4\pi \beta d}$.

Si l'on pose pour les frottements : $l = \frac{\eta}{\beta} = \frac{\text{frottement-liquide.}}{\text{frottement liquide-solide.}}$

On obtient : $v = \frac{KVH}{4\pi} \frac{l}{d}$

La vitesse v est indépendante de la dimension de la particule.

On tire de là : $V = \frac{4\pi}{K} \cdot \frac{v}{H} \cdot d \cdot \frac{\eta}{l}$

V , différence de potentiel entre les armatures, est ce que nous avons appelé le potentiel électrocinétique ; v est la vitesse de la particule dans un champ de gradient H ; η est la viscosité du liquide interparticulaire ; d est l'épaisseur du diélectrique de la couche double fictive ; et l est un terme de frottement introduit par LAMB, défini ci-dessus. La difficulté expérimentale consiste dans la signification du diélectrique auquel doit appartenir la constante K et la valeur du rapport $\frac{d}{l}$. A la suite d'une série de considérations, on admet que K est la constante diélectrique du liquide périphérique, que d est l'épaisseur d'une couche monomoléculaire (de l'ordre de 5×10^{-8} cm.) et que l a un ordre de grandeur tel que $\frac{d}{l} = 1$ et disparaisse. Mais ces admissions sont très arbitraires, et il est probable que d doit pouvoir varier jusque vers 10^{-4} , et dépendre de la concentration des électrolytes périphériques (GOUY).

Le potentiel électrocinétique est donc : $V = \frac{4\pi}{K} \cdot \frac{v}{H} \cdot d \cdot \frac{\eta}{l}$

La charge électrostatique e de la particule sera par suite :

$$e = 4 \pi r^2 \cdot \frac{v}{H} \cdot \frac{\eta}{l} = S \cdot \frac{v}{H} \cdot \frac{\eta}{l}$$

DEBYE et HÜCKEL ont apporté des modifications à cette formule : ils indiquent que la vitesse est proportionnelle non pas à la charge e de chaque particule, mais à la différence de potentiel V par rapport au liquide, qui n'est pas invariablement proportionnelle à la première, parce qu'un coefficient de forme des particules intervient. Il faudrait donc tenir compte de la forme des microbes ainsi que nous l'indiquions au début de l'exposé des méthodes d'électrophorèse.

b) *Méthode personnelle.* — La particule de charge e , placée dans un champ d'intensité H est soumise à une force égale à : eH . Cette force tend à la faire déplacer, d'un mouvement uniformément accéléré. Mais les chocs répétés contre les molécules d'eau qu'elle trouve sur son passage modifient sa vitesse, et leur rôle semble équivalent à celui d'une résistance directement opposée à la force $F = eH$, proportionnelle à la vitesse, à la surface de la section droite de la particule et au coefficient de viscosité du liquide émulsionnant. Cette résistance est :

$$S\eta \frac{dx}{dt}$$

Il suffit donc d'écrire que la force à laquelle est soumise la particule est égale au produit de sa masse m par son accélération γ .

$$eH - S\eta \frac{dx}{dt} = m\gamma.$$

Pour résoudre cette équation, nous allons d'abord l'écrire en équation différentielle.

$$(1) \quad eH - S\eta \frac{dx}{dt} = m \frac{d^2x}{dt^2}$$

Posons $x = z + \lambda t$ et divisons par m : il vient :

$$(2) \quad \frac{eH}{m} - \frac{S\eta}{m} \frac{dx}{dt} - \frac{d^2x}{dt^2} = 0$$

On a d'autre part : $x = z + \lambda t$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{dz}{dt} + \lambda$$

$$\frac{d^2x}{dt^2} = \frac{d^2z}{dt^2}$$

En portant dans (2) on obtient :

$$(3) \quad \frac{d^2z}{dt^2} + \frac{S\eta}{m} \frac{dz}{dt} + \frac{S\eta\lambda}{m} = \frac{eH}{m}$$

Preons $\lambda = \frac{eH}{S\eta}$

Il reste : (4) $\frac{d^2 z}{dt^2} + \frac{S r_1}{m} \cdot \frac{dz}{dt} = 0$

On aboutit à une équation différentielle du second ordre à coefficients constants.

Les solutions sont de la forme : $z = e^{rt}$

D'où : (5) $e^{rt} \left(r^2 + \frac{S r_1}{m} \cdot r \right) = 0$

$$r_1 = 0$$

$$r_2 = - \frac{S r_1}{m}$$

$$z = C_1 e^{r_1 t} + C_2 e^{r_2 t} = C_1 + C_2 e^{- \frac{S r_1}{m} t}$$

D'où (6) $x = C_1 + C_2 e^{- \frac{S r_1}{m} t} + \frac{e H}{S r_1} t$

Initialement à l'instant $t = 0$, l'abscisse d'une particule était x_0 .

(7) $x_0 = C_1 + C_2$.

En dérivant, il vient :

$$\frac{dx}{dt} = - \frac{S r_1}{m} C_2 e^{- \frac{S r_1}{m} t} + \frac{e H}{S r_1}$$

A l'instant $t = 0$ $x = x_0$,

d'où (8) : $0 = - C_2 \frac{S r_1}{m} + \frac{e H}{S r_1}$

Les équations (7) et (8) vont nous permettre de calculer les constantes C_1 et C_2 :

$$C_2 = \frac{e H m}{S^2 r_1^2} \quad C_1 = x_0 - \frac{e H m}{S^2 r_1^2}$$

L'équation (6) devient par suite :

(9) $x = x_0 - \frac{e H m}{S^2 r_1^2} \left(1 - e^{- \frac{S r_1}{m} t} \right) + \frac{e H}{S r_1} t$

La charge e se tire aisément de là :

(10)
$$e = \frac{S r_1}{H} \cdot \frac{x - x_0}{t - \frac{m}{S r_1} \left(1 - e^{- \frac{S r_1}{m} t} \right)}$$

* Cette formule s'applique dans le cas où la surface S est plane et perpendiculaire à la vitesse.

L'équation (9) montre que la vitesse n'est pas uniforme. En effet, pour qu'elle fut uniforme, il eut fallu que le chemin parcouru fut proportionnel au temps : $x - x_0 = \frac{eH}{S\tau_1} t$

Le terme entre parenthèses montre que le mouvement devient uniforme au bout d'un certain temps θ , dont nous pouvons évaluer un ordre de grandeur. Il suffit pour cela que le terme

$$-\frac{eHm}{S^2\tau_1^2} \left(1 - e^{-\frac{S\tau_1}{m}t} \right) \text{ s'annule. Donc, il faut que :}$$

$$1 - e^{-\frac{S\tau_1}{m}t} = 0.$$

$$\text{Développons en série : } 0 = \frac{S\tau_1}{m} \theta - \frac{S^2\tau_1^2}{2m^2} \theta^2 + \dots$$

$$\text{ou } \theta \left(\frac{S\tau_1}{2m} \theta - 1 \right) = 0 \text{ dont les racines sont : } \begin{cases} \theta = 0 \\ \theta = \frac{2m}{S\tau_1} \end{cases}$$

Le mouvement devient uniforme au bout d'un temps θ égal à $\frac{2m}{S\tau_1}$. L'ordre de grandeur de ce nombre est :

m est environ 10^{-12} gr

τ_1 » 10^{-2}

S » 10^{-8} cm².

$$\text{D'où } \theta = \frac{2m}{S\tau_1} = \frac{2 \times 10^{-12}}{10^{-8} \times 10^{-2}} = \frac{2}{100} \text{ de seconde.}$$

Le régime de vitesse uniforme s'établit donc au bout de $\frac{2}{100}$ de seconde, ce qui est pratiquement négligeable.

On peut donc admettre, en première approximation, que le mouvement de ces particules est uniforme pendant le temps d'une expérience.

La formule simplifiée de la charge sera, en négligeant le terme exponentiel (très voisin de $\frac{1}{100}$) : $e = \frac{S\tau_1}{H} \times \frac{x - x_0}{t}$.

$$e = \frac{S\eta v}{H}$$

Si nous désignons par u la mobilité, c'est-à-dire la vitesse de la particule dans un champ électrique unité, on a : $u = \frac{v}{H}$ et $e = S\eta u$.

Cette formule permettant de calculer la charge e quand on connaît la mobilité u , montre que ces deux quantités sont proportionnelles.

On peut voir, d'autre part, que cette formule se rapproche beaucoup de celle trouvée par HELMHOLTZ-LAMB, dont elle ne diffère que par le coefficient l .

c) *Méthode de LEWIS*. — Elle suppose l'application de la loi de STOKES, sur le déplacement d'une petite sphère en vitesse de régime dans un liquide.

Si η est le coefficient de viscosité du liquide, r le rayon de la particule, la résistance rencontrée par la particule dans son mouvement est proportionnelle à sa vitesse, à son rayon et à la viscosité du fluide ; comme le mouvement est uniforme, cette résistance est égale à la force qui la sollicite : $F = eH = 6\eta r\pi v$

d'où :

$$e = \frac{6 \pi r \eta v}{H}$$

Notons que ce même raisonnement nous conduit à la connaissance de la masse d'un germe. En effet, quand on laisse tomber sans vitesse initiale, une particule sphérique dans un liquide, son mouvement devient uniforme quand la force qui la sollicite (pésanteur moins la poussée hydrostatique) est égale à la résistance que lui oppose le liquide.

Ceci d'ailleurs découle de l'équation différentielle du chapitre précédent.

On a donc : $P = mg = 6 \pi r \eta v$ si m est la masse et g l'accélération de la pesanteur. D'où : $m = \frac{6\pi r \eta v}{g}$

Nous pouvons encore évaluer la densité de la particule (en supposant 1 celle du liquide).

On sait que $m = \text{volume} \times \text{densité} = \frac{4}{3} \pi r^3 d$

D'où $d = \frac{9}{2} \frac{\eta v}{r^2 g}$

d) *Méthode d'évaluation du rapport $\frac{e}{m}$ de la charge à la masse.*

— Le principe est le suivant : on laisse la particule tomber sous l'action de son propre poids. On la fait remonter par un champ électrique approprié ; on obtient une relation entre la charge et la masse en fonction des vitesses de chute et de montée.

Arrangeons-nous pour placer verticalement notre cellule à transport électrique, de façon à avoir un champ électrique vertical. Soit v_0 la vitesse de chute de la particule, en dehors de tout champ électrique. Nous savons que cette vitesse est uniforme (voir chapitre précédent) et qu'elle correspond à une force f_0 égale à mg (le poids de la particule.)

Etablissons maintenant un champ électrique vertical entre les deux électrodes : la force électrostatique qui s'exerce sur la particule est égale à eH . Si cette force est dirigée de bas en haut, la force totale qui s'exerce sur la particule est : $f = mg - eH$ (le signe — indique que eH est dirigée de bas en haut ; à l'inverse de la force mg dirigée de haut en bas).

Soit v la vitesse de chute ou d'ascension quand on fait agir le champ H . Comme les vitesses sont proportionnelles aux forces, on peut écrire : $\frac{v}{v_0} = \frac{f}{f_0} = \frac{mg - eH}{mg} = 1 - \frac{eH}{mg}$

D'où : $\frac{e}{m} = \frac{g}{H} \left(1 - \frac{v}{v_0} \right)$

Cette formule donne $\frac{e}{m}$ en fonction de v et v_0 . Or, il est facile de mesurer les vitesses v et v_0 . Il suffit de renverser le microscope de façon à mettre la cellule à transport verticalement, laisser tomber un microbe et suivre son déplacement de haut en bas, établir un champ H suffisant pour qu'il remonte ; le supprimer dès qu'il arrive en haut ; le laisser retomber et recommencer ainsi un assez grand nombre de fois pour diminuer les erreurs de mesure. On obtient donc le rapport $\frac{e}{m}$ de la charge à la masse. Cette dernière quantité est plus difficile à déterminer ; cependant, en supposant la particule sphérique, et la loi de STOKES applicable, on peut évaluer e en remplaçant m par $\frac{6\pi\eta r_0 v_0}{g}$.

En terminant l'exposé de ces méthodes d'électrophorèse, nous ferons remarquer que la vitesse de déplacement est proportionnelle au champ H .

La force à laquelle est soumise la particule est $F = e H$. Son mouvement serait uniformément accéléré, si les molécules d'eau n'intervenaient par leur viscosité pour créer une sorte de résistance directement opposée à F , proportionnelle à la vitesse, et qui pour une vitesse donnée devient égale à F . On a alors : $F = e H = k v$, où k est une sorte de coefficient de frottement. D'où : $v = \frac{e}{k} H$.

La vitesse v est donc proportionnelle au champ H . Nous verrons plus loin, jusqu'à quel point cette formule se vérifie expérimentalement.

Comme d'après la définition de la mobilité $u = \frac{v}{H}$,

On obtient : $u = \frac{e}{k}$.

La mobilité u est proportionnelle à la charge e (pour des particules de mêmes dimensions).

II. — Méthodes de répartition dans l'espace.

On utilise la répartition statistique des éléments d'une suspension en repos en appliquant la formule de PERRIN, avec la généralisation de BURTON. Cette répartition dépend de la « pression osmotique » des particules supposées assimilables à des molécules, de leur poids diminué de la pression hydrostatique, et de leur charge. En mesurant le nombre d'éléments par unité de volume dans la portion de la suspension où la répartition limite est atteinte, on tire la charge e (VLÈS).

Les particules tendent à se répartir en hauteur suivant une loi analogue à celle des pressions dans l'atmosphère (loi de LAPLACE) et leurs nombres aux différentes hauteurs s'échelonnent suivant une loi exponentielle (PERRIN). Nous avons plusieurs systèmes de forces en jeu : des forces de diffusion, qui correspondent à une pression osmotique des grains envisagés comme de grosses molécules ; le brassage du mouvement brownien ; les répulsions électrostatiques entre les grains qui les empêchent de se rapprocher trop près ; et la pesanteur qui tend à les accumuler au fond du récipient. En réalité, BURTON a fait remarquer que la concentration des particules ne s'accroît pas indéfiniment vers le fond du récipient, mais tend vers une limite constante imposée par l'action des charges électrostatiques.

Lorsque des microbes isolés, ou provenant d'une suspension assez diluée pour qu'ils soient infiniment loin les uns des autres, sont en train de sédimenter en milieu tranquille, le facteur physique qui intervient est représenté par la résistance de la loi de STOKES, c'est-à-dire que les particules attirées vers le bas par la pesanteur prennent une vitesse de régime au moment où la résistance qu'elles rencontrent dans le liquide est contrebalancée par leur poids (moins la poussée hydrostatique).

Nous venons de voir que cette vitesse de régime était :

$$v = \frac{2}{9} \frac{r^2}{\eta} \left(D - d \right) g$$

si D est la densité de la particule supposée sphérique et d celle du liquide. En réalité, cette vitesse de régime n'est réalisée que lorsque la suspension est infiniment diluée, et que l'on peut consi-

dérer une particule comme isolée et hors de portée de l'interaction des autres particules. Lorsque la suspension est assez concentrée pour que les grains soient proches, il faut adjoindre un terme de freinage où interviennent les répulsions électrostatiques, les bousculades dues aux chocs browniens, et la pression osmotique des grains (au sens de PERRIN). Ce terme de répulsion est variable, puisqu'il dépend de la concentration de la suspension, que celle-ci croît en fonction du temps, et dépend par conséquent de la vitesse elle-même... En fait la charge électrostatique des particules a une très grosse importance dans la valeur de la vitesse de sédimentation et par suite le pH du milieu en est une variable fondamentale (VLÈS).

III. — Méthodes de floculation.

On détermine la quantité d'ions connus dont la présence est nécessaire pour annuler le transport électrophorétique d'une particule (BURTON). Si x particules par cm^3 de suspension ont leurs mouvements arrêtés par la présence de y ions grammes, de charge totale yF (F étant le faraday = 96.000 coulombs), on suppose que chaque particule est bloquée par $\frac{yF}{x}$ coulombs, et a donc une charge de : $e = - \frac{yF}{x}$.

Ce raisonnement suppose que tous les ions inhibiteurs introduits ont été adsorbés pour annuler par leur charge, le transport des particules. Or, il y a certainement un équilibre de partage entre les particules et la solution périphérique, de sorte que les chiffres obtenus doivent être trop forts.

Un essai a été tenté par VLÈS pour tenir compte de ce partage en utilisant les ions H^+ . Pour déterminer la charge de floculation, c'est-à-dire le potentiel critique où une suspension devient instable, on peut mesurer le pH d'une solution dans laquelle on va introduire la suspension, et le pH du système après la floculation ; on rapporte la quantité d'ions H^+ disparus au nombre de particules déchargées, en tenant compte de l'intervention des propriétés du liquide dans la variation de $p\text{H}$,

c'est-à-dire de son coefficient tampon. Dans ce cas, on a :

$$c = I \cdot \frac{t \cdot \Delta pH \cdot n}{ax}$$
 où n est le nombre de cm^3 de la solution initiale de pH , a le nombre de cm^3 de la suspension contenant x particules par cm^3 , et t le coefficient tampon du liquide.

Valeur des différentes méthodes.

Les résultats fournis par ces diverses méthodes ne sont pas en parfait accord. Trop faibles dans la formule de LEWIS dont l'erreur expérimentale considérable vient de ce que l'on évalue mal le rayon de la particule et que l'on ne sait jusqu'à quel point intervient l'atmosphère liquide qui l'entoure ; trop forts dans la conception de BURTON, où il est possible que l'intérieur de la particule soit aussi capable d'adsorber les ions venus de l'extérieur ; ces résultats, à l'heure actuelle, ne peuvent revêtir qu'un caractère relatif : en prenant la précaution d'employer toujours la même méthode, on peut cependant comparer les résultats obtenus, si l'on opère dans les mêmes conditions. C'est ce que nous avons fait dans les études que nous relaterons plus loin.

Les auteurs semblent avoir pris l'habitude d'employer la formule de HELMHOLTZ-LAMB dans laquelle ils font $\frac{d}{l} = I$ et, prennent pour K la constante diélectrique du liquide.

Remarquons que dans les formules qui relèvent des méthodes d'électrophorèse, la charge est proportionnelle à la vitesse, dans un même champ (pour des particules de même dimension) : $c = k \frac{v}{H}$. Il est donc beaucoup plus simple de ne considérer que la vitesse des germes, quand on veut la comparer à d'autres germes de même dimension. C'est souvent ce que nous ferons, quand nous voudrons du moins établir un parallèle entre les divers *Brucella* par exemple, entre les *Salmonella*... Si, au contraire, notre intention était d'étudier les différences entre plu-

sieurs espèces, il faudrait exprimer les charges ; encore n'obtiendrions-nous pas de valeurs absolues comparables.

LES IONS DANS LES SUSPENSIONS MICROBIENNES.

Dans ce chapitre, plein de complexité et d'inconnu, nous envisagerons les phénomènes du point de vue le plus simple et le plus général.

Considérons une suspension microbienne dans de l'eau bi-distillée.

Au moment même où elle vient d'être préparée, elle se compose des germes introduits, et des ions H^+ et OH^- de l'eau dissociée en petite quantité. L'interface entre le germe et le liquide qui l'entoure, adsorbe électivement certains ions de l'eau, ordinairement les ions OH^- (pour la plupart des microbes) et se charge ainsi d'une certaine quantité d'électricité égale à la somme des ions OH^- fixés. Mais vis-à-vis de chacun des ions, font face des ions H^+ formant l'autre feuillet de la couche double. Essayons de voir comment les choses peuvent se passer :

1° *Conductibilité.* — Soit v la vitesse prise par les microbes dans le champ H , u leur mobilité ($u = \frac{v}{H}$). Considérons (fig. 5) un tube de section s , cylindrique et horizontal, fermé par deux électrodes et contenant une suspension microbienne. Les germes qui traversent pendant une seconde une section MM' du tube, sont ceux qui, au début de cette seconde, étaient compris entre MM' et une section NN' distante de : $v = uH$, c'est-à-dire dans un volume de suspension égal à : uHs . Si la suspension contient N germes par cm^3 , le nombre des microbes qui traversent MM' en une seconde est : $NuHs$.

L'ensemble de ces germes transporte par seconde une quan-

tité d'électricité égale à : $N u H s e$. Si un microbe (fig. 6) fixe un ensemble d'ions de charge $-e$, on admet que cette charge appelle autour d'elle une autre charge $+e$ qui la neutralise (ions H^+ ou métalliques). Soit u' la mobilité des ions H^+ ou métalliques, dont l'ensemble neutralise le germe donné. Cet ensemble d'ions du deuxième feuillet de la couche double trans-

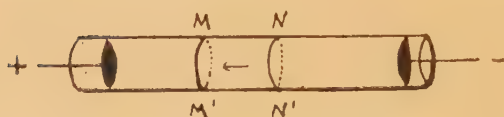


Fig. : 5



Fig. : 6

portera lui aussi une quantité d'électricité égale à $N u' H s e$. L'intensité totale du courant sera donc : $I = N (u + u') H s e$. La quantité d'électricité qui traverse par seconde l'unité de surface de section $M M'$ sera : $i = \frac{I}{s} = N (u + u') H e$. Comme la direction de ce courant est la même que celle du champ H , on peut écrire : $\vec{i} = \sigma \vec{H}$ avec $\sigma = N (u + u') e$

σ est la conductibilité de la suspension considérée.

Cette formule montre que la conductibilité de la suspension provient beaucoup plus des ions H^+ (de mobilité u') que des microbes. Ces derniers représentent les gros ions, lourds, se déplaçant lentement à une vitesse de l'ordre de 1 à 2 μ /sec par volt/cm. ; tandis que l'ion H^+ se meut à la vitesse de 32,5 μ /sec par volt/cm.

Ces ions H^+ proviennent évidemment de l'eau. Deux hypothèses sont alors en présence :

a) l'eau étant faiblement ionisée, les germes ont adsorbé un certain nombre d'ions OH^- qui ont attiré à leur tour un nombre équivalent d'ions H^+ .

Par suite la conductibilité de l'ensemble devrait diminuer et le pH devrait varier. En fait, comme nous le verrons plus loin, une suspension microbienne est presque toujours plus alcaline que l'eau qui a servi à l'émulsionner.

β) On peut supposer que les microbes provoquent une dissociation de l'eau : En effet, on a $\frac{[H^+] \times [OH^-]}{[H^2O]} = K$, et si l'on représente la molécule microbienne par M H : $\frac{[M^-] \times [H^+]}{[MH]} = K'$.

Une augmentation de $[M^-]$ va provoquer la formation du complexe $[MH]$; par suite une quantité correspondante de $[H^+]$ va se former au dépens de $[H^2O]$ pour rétablir l'équilibre ; et il reste les ions OH^- non utilisés qui donneraient une réaction alcaline au milieu. Remarquons tout de suite que cette hypothèse n'est pas très vraisemblable, car les microbes n'acquièrent probablement leur charge négative que lorsqu'ils sont plongés dans le milieu ionisé.

Cependant il faut bien se rappeler qu'en dehors du phénomène d'adsorption et de la couche double, il existe le potentiel thermodynamique qui, peut-être, confère originellement une charge au germe considéré. Rappelons que FALK avait voulu y voir, ainsi que dans l'équilibre de DONNAN qui s'établirait entre la bactérie et le liquide qui l'entoure, une conséquence de la sécrétion de la toxine, et par suite en avait conclu à une relation entre la charge et le pouvoir toxigène.

Quoiqu'il en soit, nous pouvons envisager un microbe en suspension dans l'eau comme une molécule formée du germe central chargé négativement et d'une enveloppe d'ions positifs qui le neutralisent.

2^o *Electrophorèse*. — Lorsque nous plaçons dans un champ électrique cette molécule microbienne, que se passe-t-il ? Deux hypothèses peuvent être envisagées :

a) Les molécules microbiennes ne sont pas dissociées : le cou-

rant électrique décompose donc les molécules microbiennes électriquement neutres, en microbe chargé négativement et ions H^+ chargés positivement. La loi d'OHM ne peut s'appliquer, car la force électromotrice est utilisée d'abord pour dissocier les molécules, ensuite pour transporter les ions. Si elle est faible, il y aura dissociation et non transport.

b) Les molécules microbiennes sont dissociées dans l'eau : dans ce cas la loi d'OHM s'applique, et l'électrophorèse a lieu même pour le champ le plus petit. Resterait à savoir si toutes les molécules microbiennes sont dissociées, ou si seulement quelques-unes d'entre elles le sont.

Nous pourrions connaître, d'une manière relativement simple, le nombre d'ions fixés sur chaque microbe. Il suffirait de reprendre le calcul de σ et de remplacer e (charge du germe), par nq (q = charge d'un ion) : on obtiendrait n : nombre d'ions fixés. Faisons remarquer que, après électrophorèse en tube en U par exemple, il suffirait de déterminer le p H et la conductibilité des liquides cathodique et anodique.

Hypothèse d'un microbe ayant adsorbé un nombre fixe d'ions.

Il donne à la suspension une conductivité : $\sigma = Ne(u + u')$.

Pour des concentrations croissantes en germes, on devrait avoir des accroissements proportionnels de la conductibilité. Or, nous avons maintes fois constaté, comme nous le relaterons plus loin, que σ n'est pas une fonction linéaire de N , pour toutes les concentrations. Il y a des intervalles de concentration où σ paraît très peu varier. Dans notre hypothèse, pour expliquer ce phénomène, nous ne pouvons que supposer une diminution de e et u à mesure que la concentration augmente. Donc, plusieurs cas sont à envisager :

1° σ est proportionnel à N : e et u restent constants pour toutes les concentrations.

2° σ est sensiblement constant jusqu'à une concentration N_1 ;

pendant cet intervalle, il faudrait nécessairement supposer qu'il y a une diminution de la charge e ou de la mobilité u . Comment expliquer la chose ? Lorsque la concentration augmente, la quantité d'ions OH^- que fixe chaque microbe diminuerait (par suite du manque d'ionisation de l'eau, peut-être), et tendrait vers une limite constante, pour laquelle il y aurait de nouveau proportionnalité entre σ et N .

3^o σ diminue quand N augmente : il faudrait supposer que dans le même intervalle e et u diminuent beaucoup.

L'hypothèse d'un microbe ayant adsorbé un nombre fixe d'ions, et restant ainsi en équilibre pendant la durée des expériences, est cependant assez peu vraisemblable, malgré la rapidité avec laquelle on peut effectuer celles-ci. Nous allons donc envisager un autre cas beaucoup plus complexe, mais se rapprochant, nous semble-t-il, un peu plus de la réalité.

Hypothèse d'un microbe émettant des ions d'une façon continue.

Cela semble à priori contraire à l'équilibre de DONNAN, car en faisant cette hypothèse nous admettons implicitement que l'équilibre entre l'intérieur du microbe et le liquide extérieur n'est jamais atteint. Cependant, il est bien évident qu'un germe en suspension dans l'eau laisse diffuser des ions. En admettant que ce soit un ion simple (ce qui est bien improbable), on pourrait se demander quel serait son signe. Si sa charge a le signe contraire, à celui du germe, placé dans le champ électrique, le germe ira d'un côté et l'ion de l'autre.

Soit v la vitesse du microbe, t le temps, et x l'abscisse au temps t .

Le mouvement du microbe est : $x = vt + x_0$, x_0 étant l'abscisse à l'origine.

Au temps θ , le microbe émet une charge $-q$ qui se dirige du côté opposé au microbe, et son abscisse est : $x_\theta = v\theta + x_0$.

Au temps 2θ , pour lequel $x_{2\theta} = 2v\theta + x_0$, une 2^e charge est émise...

Au temps $n\theta$, $x_n = nv\theta + x_0$, la n^e charge est émise.

Soit w la vitesse de cet ion émis. Son mouvement sera :

$$z = -w t + C$$

Calcul de C : au temps $t = n\theta$ les abscisses du germe et du n^e ion émis sont égales ; donc $z_n = x_n$.

$$\text{D'où l'on a : } nv\theta + x_0 = -w t + C = -w n\theta + C$$

$$C = n\theta (v + w) + x_0.$$

L'équation du mouvement de la particule émise sera donc :

$$z_n = -w t + n\theta (v + w) + x_0.$$

Le temps t est l'heure de l'émission.

Le temps θ est la période d'émission, c'est-à-dire le temps qui sépare chaque émission et z_n est l'abscisse de la charge émise la n^e fois.

Si au contraire, la charge émise a le même signe que celui du germe, placés dans le champ électrique ils iront tous deux au même pôle et l'équation du mouvement de la charge deviendra :

$$z_n = w t + n\theta (v - w) + x_0.$$

Pratiquement, il suffirait de déterminer la conductibilité des liquides anodique et cathodique à une distance exactement déterminée des électrodes. Mais le problème se heurte au fait que les substances diffusées ne sont probablement pas dissociées en ions simples, dont nous ne connaissons ni la vitesse ni la charge.

Conclusion.

On voit que si ces problèmes sont relativement simples pour les particules inertes dont on connaît toutes les propriétés et les caractéristiques, ils se compliquent à l'extrême dès que l'on envisage la possibilité d'une transformation de ces particules, d'une évolution qui se poursuit à l'intérieur d'elles-mêmes, et modifie non seulement leur composition intime, mais aussi celle du milieu extérieur dans lequel elles sont plongées. C'est pour-

quoi nous nous efforçons d'effectuer nos expériences et manipulations le plus rapidement possible, de façon à essayer de saisir les propriétés de ces suspensions dès leur naissance. Dans la grande courbe d'évolution des suspensions microbiennes, nous envisageons le premier instant de leur vie : nous analysons les phénomènes dont elles sont le siège et tâchons de les relier entre eux par quelques lois générales.

Mais à l'origine des recherches de nos éminents devanciers n'oublions pas les expériences mémorables de LORTET et de KÜHNE : Un bacille placé dans un champ électrique de quelques milliers de volts s'oriente de telle façon que son grand axe soit parallèle aux lignes de force du champ. A première vue l'explication paraît simple : la densité électrostatique des charges est plus grande à chaque extrémité du bacille et celui-ci s'oriente dans le champ à la façon d'un dipôle.

Or, dans un champ de faible intensité (jusqu'à 100 volts/cm. environ) on ne constate aucune orientation, mais seulement un déplacement du microbe dans la position quelconque où il se trouve. Il y aurait là une apparente contradiction. En réalité nous pensons que l'orientation se produit toujours, mais avec un certain retard dû principalement aux frottements, en un mot à la viscosité du milieu. En effet, dans l'électrophorèse en champ d'une centaine de volts par centimètre, on constate que peu à peu les bacilles tendent à s'orienter dans la direction du champ, et qu'au bout d'un certain temps, ils sont presque tous parallèles au champ. Il existe en somme une sorte d'anisotropie, de la molécule microbienne, que nous essaierons de retrouver, dans un travail ultérieur, non seulement chez les microbes sphériques, mais encore chez les virus filtrants.

En somme, nous voyons dans toutes ces modalités un seul et même phénomène : des masses de petites dimensions, en perpétuel échange avec le milieu extérieur, qui s'orientent dans le champ électrique, s'y déplacent avec une certaine vitesse, offrent une plus ou moins grande facilité au passage du courant, et tout

cela suivant le nombre de ces particules, leurs dimensions, leurs formes, leur nature, leur composition moléculaire même. En fin de compte c'est cette dernière qui règle le comportement de toutes les « propriétés électriques » des microbes, comme c'est d'elle certainement que dépendent leurs propriétés spécifiques. De même qu'un corps chimique est parfaitement caractérisé quand on en connaît la formule développée, de même le microbe sera identifié quand on saura, non pas sa formule — ce qui n'a aucun sens — mais l'ensemble des propriétés en rapport immédiat avec sa constitution intime, avec ce que l'on pourrait appeler son architecture ionique. C'est à cela que nous nous sommes attaché et c'est en vue de l'établissement et de la coordination de ces propriétés que nous rapportons plus loin les détails et les résultats de nos recherches.

TECHNIQUE

Les déterminations effectuées en vue du présent travail se rapportent au transport électrique, à la conductibilité, au pH, à la concentration des suspensions. Nous allons passer en revue les techniques utilisées et l'approximation des résultats obtenus.

Préparation des suspensions.

Des cultures de 24 à 48 ou 72 heures (suivant le microbe étudié) sur gélose peptonée ordinaire, sont délayées dans de l'eau distillée stérile. Une première centrifugation à 5.000 tours/minute pendant une dizaine de minutes suffit à débarrasser grossièrement les germes des substances provenant du milieu de culture. Le culot de centrifugation est remis en suspension homogène dans de l'eau bi-distillée et centrifugé une deuxième fois à 7.000 tours/minute pendant vingt minutes. On effectue ainsi quatre lavages successifs. Le culot obtenu finalement est émulsionné (au moment de l'emploi) dans quelques gouttes seulement d'eau distillée stérile : cette émulsion constitue la suspension-mère, que l'on utilise immédiatement. On en répartit quelques centimètres-cube ou fractions de cm^3 dans un certain nombre de tubes, préalablement stérilisés et lavés à la vapeur, tubes contenant des quantités croissantes d'eau bi-distillée. On a finalement une série de suspensions fraîches que l'on utilise le plus vite possible, avant que des échanges trop importants n'aient eu

la possibilité de se faire entre le protoplasma microbien et le liquide de suspension : On se rend d'ailleurs compte de ces échanges et de ces sécrétions par la conductibilité du liquide, comme nous le montrerons ultérieurement (p. 95 et 101).

Numération des germes.

La détermination de la concentration des suspensions en éléments microbiens a été effectuée chaque fois par la méthode microscopique au moyen d'une cellule de Zeiss, genre Thoma. La cellule que nous avons utilisée porte un quadrillage dont chaque petit carré couvre une aire de $\frac{1}{400}$ de mm². Le grand avantage de cette cellule sur les Thoma ordinaires, est que son épaisseur n'atteint que 0 mm. 02, c'est-à-dire 20 μ . La mise au point est donc extrêmement précise, et il est inutile d'attendre la sédimentation totale pour opérer la détermination.

1^o *Marche à suivre.* — Une goutte de la suspension est introduite par capillarité sous la lamelle de la cellule compte-microbes. On sèche avec un papier buvard le liquide qui dépasse et qui humecte les rainures transversales, et l'on porte la cellule sous le microscope. On peut regarder à l'immersion à l'huile de cèdre avec éclairage ordinaire : on verra alors dans le champ, après avoir mis au point sur le quadrillage, des tâches noires plus ou moins mobiles.

Un gros avantage réside dans l'observation sur fond noir : les côtés du quadrillage apparaissent sous forme de lignes blanches entre lesquelles s'ébattent des points brillants dont le dénombrement est beaucoup plus facile et moins fatigant qu'avec l'éclairage ordinaire. C'est cette méthode que nous employons constamment. Il va sans dire que si la suspension est trop épaisse, il convient de la diluer, de façon à n'avoir dans chaque carré qu'un maximum de huit germes environ. Les premiers

temps, on opère par tâtonnements, mais dans la suite une certaine habitude permet de voir, presque à coup sûr, le degré de dilution qu'il faut donner à l'émulsion pour la rendre numérable.

2^o Approximation des résultats fournis. — Les erreurs proviennent d'abord de la dilution de la suspension initiale. Comme nous avons l'habitude d'opérer avec des pipettes au centième de cm^3 et dans des ballons jaugés, nous pouvons admettre que l'erreur commise sur ces dilutions est de l'ordre du centième.

L'erreur provenant de la numération des germes proprement dite est bien plus grande. En effet, les côtés des petits carrés, qui, sous un faible grossissement peuvent être considérés comme des droites sans épaisseur, apparaissent, à un fort grossissement, sous forme de surfaces véritables. Or, les microbes, dont l'ordre de grandeur est le même que la largeur de ces aires, peuvent aussi bien se trouver à l'intérieur d'un petit carré que sur l'épaisseur de ses côtés. Dès lors, on s'expose à les omettre ou à les compter deux fois. La recherche de l'erreur commise se ramène au problème suivant : étant donnés un certain nombre de points situés à l'intérieur d'une surface S (S = aire du carré + aire de deux de ses côtés), combien y a-t-il de chances pour que ces points soient situés sur une surface s (s = aire des deux autres côtés du carré) comprise dans S ?

Le calcul montre que la probabilité pour qu'un point pris à l'intérieur d'une surface S , soit situé sur une portion s de cette aire, est égale au rapport des aires $\frac{s}{S}$. Or, l'erreur commise en comptant les germes provient de ce que nous ne voyons pas ceux qui sont situés sur les côtés du carré. Comme on fait la moyenne entre les carrés de plusieurs rangées, l'erreur est égale au rapport de la surface de deux des côtés du carré à l'aire d'un carré. Nous avons donc mesuré l'épaisseur de plusieurs côtés des différents carrés ; la valeur moyenne trouvée fut 1 μ , 45. La surface recouverte par deux côtés est : $2 \times 1,45 \times 50 = 145 \mu^2$.

La surface d'un carré est : $50^2 = 2.500 \mu^2$. L'erreur sera donc :

$$\frac{s}{S} = \frac{145}{2.500} = 5,8 \, \%$$

Des expériences répétées à des dilutions différentes, nous ont d'ailleurs montré qu'on pouvait faire une numération de germes de la grosseur des *Brucella* avec une approximation de 6,5 à 7 %, ce qui cadre très bien avec l'erreur calculée : $5,8 + 1 = 6,8 \%$. Avec des germes de plus grandes dimensions, l'erreur est plus petite, et elle l'est d'autant plus que la différence de grosseur entre les microbes et la largeur des traits est plus considérable.

Electrophorèse.

Le déplacement des plastides bactériennes dans un champ électrique peut être mis en évidence de deux façons : par l'examen d'ensemble ou macroscopique, et par l'examen individuel ou microscopique. Le premier donnera une idée du phénomène de déplacement, de son sens, de l'ordre de grandeur de sa vitesse. Le second permettra de préciser le mouvement de chaque microbe. C'est celui que nous avons toujours employé pour nos mesures et que nous étudierons en deuxième lieu.

Examen d'ensemble. — Il se fait ordinairement au moyen de tubes en U dont on a imaginé et décrit maintes formes, avec ou sans dispositif de dépolarisation, troisième branche centrale... Pour ses descriptions et utilisations, nous renvoyons le lecteur aux mémoires originaux très nombreux sur cette question.

Nous voudrions cependant signaler les services que nous a rendue, au début de nos recherches, une petite cuve rudimentaire, construite de toutes pièces au laboratoire. Elle était constituée par deux lames porte-objets collées parallèlement entre elles, et à une distance d'environ deux centimètres, par de

petites travées de verre, au moyen d'une colle spéciale insoluble et non conductrice. L'ensemble formait par conséquent un parallépipède rectangle dont les faces latérales seules étaient en verre. Les deux autres côtés et le fond étaient constitués par une feuille de collodion repliée sur le verre. La suspension microbienne était introduite dans la cuve ainsi formée. Celle-ci était immergée dans l'eau distillée stérile jusqu'à hauteur égale à celle de la suspension ; deux lames d'or de 15 mm. de large environ et de plusieurs centimètres de hauteur plongeaient dans l'eau, chacune contre une face de collodion de la cuve, et de cette façon ne plongeaient pas dans la suspension. Dès que le champ électrique était établi (110 volts pour un écartement de 7 à 8 cm. environ des électrodes), les microbes se déplaçaient. En effet, 30 à 45 minutes plus tard, avec des pipettes très effilées et munies de tubes de caoutchouc, on procédait à trois prélèvements : prélèvement du liquide baignant l'anode, prélèvement du liquide baignant la cathode et du liquide situé à 6 ou 10 mm. de l'anode. Nos constatations étaient les suivantes (dans le cas de staphylocoques par exemple) :

a) Liquide cathodique : limpide, clair ; ne présente pas de germes ni au microscope, ni après centrifugation prolongée.

b) Liquide anodique : trouble ; présente une multitude de germes, dont beaucoup se sont même rassemblés en amas, formant une sorte de précipité.

c) Liquide situé à 6 ou 10 mm. de l'anode : présente une concentration en germes voisine de celle de la suspension initiale.

L'interprétation de ce résultat est très simple : divisions par la pensée la cuve précédente en tranches égales $a \ b \ c \dots m \ n$ verticales et parallèles aux armatures du condensateur (fig. 7). Tout se passe comme si les microbes, chargés négativement, étaient repoussés par la cathode. Pendant un intervalle de temps suffisamment petit dt , la tranche a passe de a en b , la tranche b passe de b en $c \dots$, de sorte que les plastides effectuent un mouvement d'ensemble de la cathode vers l'anode. Il se manifeste d'ailleurs d'une façon évidente dans un

tube en U où l'on voit se déplacer la surface de séparation entre le trouble de la suspension et le liquide clair dont elle s'est séparée. A la cathode, il ne reste plus de germes : c'est la constatation que l'on fait expérimentalement. Pendant le même temps dt , la tranche m passe de m en n ; la tranche $m-1$ est passée en m ; donc, la tranche n (celle qui est la plus proche de l'anode mais qui ne la baigne pas) doit contenir le même nombre de germes que la suspension initiale : c'est aussi ce que l'on constate. Enfin, la tranche n s'est, pendant le temps dt , collée sur l'anode. Si l'on a fait passer le courant pendant un temps égal à p fois dt , p tranches (de $n-p$ à n) se seront précipitées sur l'anode : c'est ce qui explique que le liquide anodique

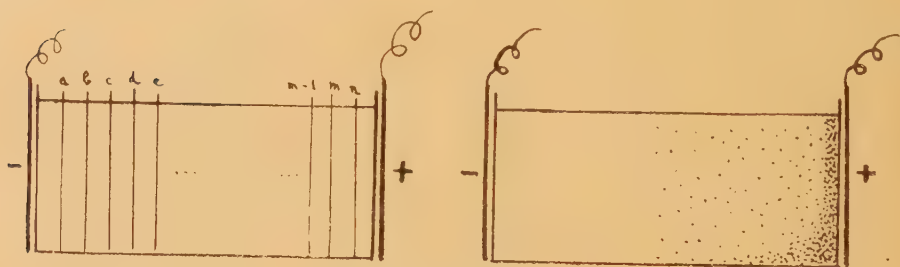


Fig. 7

contienne un grand nombre de germes dont beaucoup d'entre eux se sont agglutinés, parce qu'ils auraient cédé leur charge à l'anode, en permettant ainsi le passage du courant. Le transport électrique des microbes semblerait donc être un mouvement uniforme.

Examen microscopique. — C'est le seul dont nous nous soyons servis pour effectuer nos mesures. Il consiste à suivre directement au microscope un germe dans son déplacement électrophorétique et à déterminer sa vitesse. Pour cela on fait usage d'une cellule spéciale formant cuve minuscule et comprenant deux électrodes inattaquables, d'un chronomètre pouvant être déclenché par l'interrupteur assurant la fermeture et la rupture

du champ électrique, d'un inverseur de courant, et de sources de potentiel variant de 10 à 100 volts environ.

1^o Description des appareils.

a) *La cellule* : nous avons réalisé le dispositif de COTTON et MOUTON ⁽¹⁾ de la façon suivante : sur une lame de verre épais, mesurant 9 cm. sur 2 cm., nous avons collé en *a* et *b*, deux lamelles de verre de même épaisseur, telles qu'elles délimitent une petite cuve de 3/10 mm. environ de profondeur (fig. 8). Deux lamelles d'or fin, de largeur exactement égale à celle de

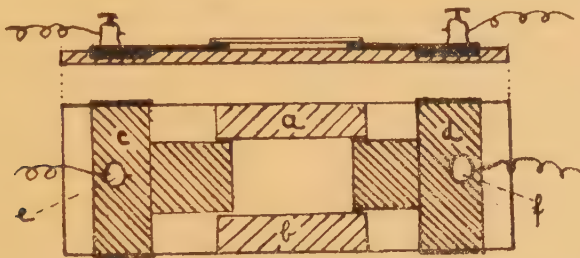


Fig. : 8

la cuve ainsi formée, et d'épaisseur légèrement moindre que les lamelles de verre, sont soudées chacune à une lame de cuivre *c* et *d* pouvant glisser le long de la lame de verre et portant les bornes (*e*, *f*) d'arrivée et de sortie du courant. Une graduation inscrite sur le dos de la cellule permet à tout instant de connaître en millimètres la distance des deux électrodes d'or qui peuvent, par suite de la possibilité de glissement des lames de cuivre, se rapprocher ou s'éloigner l'une de l'autre. Les caractéristiques de notre cuve sont : longueur, 20 mm., largeur, 10 mm., profondeur, 0 mm. 26. Nous n'avons pas employé de

⁽¹⁾ COTTON et MOUTON, [35] « Les Ultramicroscopes », Masson, Paris 1906.

dispositif de dépolarisation, car nous ne faisons porter l'observation que sur le milieu de la préparation et pendant seulement quelques secondes.

b) *Le microscope* : Nous nous sommes servis d'un microscope Zeiss, objectif à immersion (huile de cèdre) $1/16$ et oculaire 6 à micromètre. Ce dernier est gradué en divisions, telles que chacune d'elles représente $1 \mu, 55$, lorsqu'on les regarde avec le système optique précédent. Le champ entier est couvert par 90 divisions.

Nous avons également étalonné la vis micrométrique, de façon à repérer exactement la profondeur de la préparation à laquelle nous faisons nos observations : une division de la vis micrométrique correspond à un déplacement du microscope de $1 \mu, 4$ quand on examine une préparation aqueuse. La hauteur de notre cellule évaluée en divisions de la vis micrométrique serait environ de 180 divisions.

c) *La source de courant* : Elle est fournie par une batterie d'accumulateurs ou par le secteur. Nous avons disposé un réducteur de potentiel mettant à notre disposition toutes les différences de potentiel depuis 110 volts jusqu'à 2 volts. Un inverseur de courant permet de renverser le sens du champ (fig. 9). Un voltmètre et un milliampéremètre indiquent à tout instant le voltage et l'intensité du courant employé.

d) *Le chronomètre* : Il indique le $1/5^e$ de seconde. Nous avons réalisé très simplement la fermeture du circuit et la mise en marche du chronomètre synchroniquement. Un interrupteur *c* (fig. 9), grâce à un levier coudé mobile autour d'un axe, assure en même temps que la fermeture du circuit, le déclenchement du chronomètre par le petit bouton mobile de ce dernier. Pendant toute la durée du fonctionnement, il est nécessaire d'appuyer sur l'interrupteur *c*. A la fin de l'expérience, on lâche l'interrupteur *c*, qui revient à sa position de rupture du circuit grâce à un ressort *d*, lequel assure automatiquement et synchro-

niement l'arrêt du chronomètre. L'exécution synchrone de ces deux opérations représente un très gros avantage au point de vue de la précision des mesures.

2° Marche à suivre.

Deux ou trois gouttes de la suspension à étudier, fraîchement préparée, sont déposées sur la cellule entre les deux électrodes. On couvre le tout d'une lamelle, qui adhère fortement par capillarité aux cales de verre, et l'on fait en sorte qu'elle n'empri-

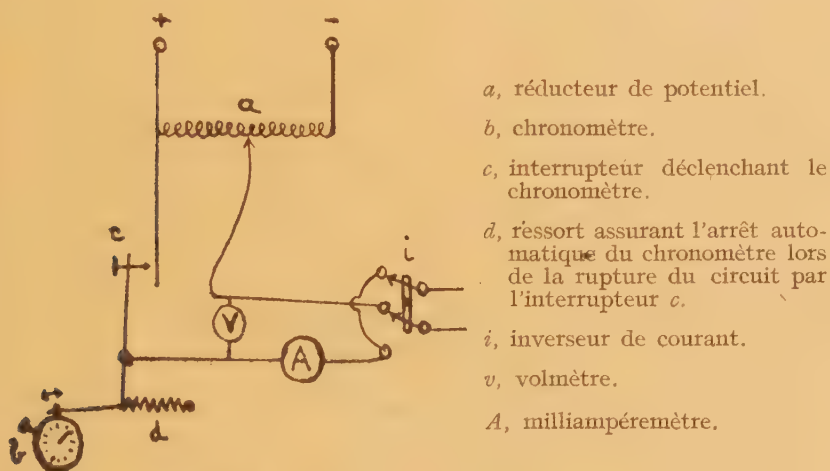


Fig. 9

sonne aucune bulle d'air. S'il y a trop de liquide, on aspire l'excès avec un papier buvard ; s'il n'y en a pas assez, on en rajoute délicatement par capillarité avec une pipette, en évitant la formation de bulles. On règle ensuite l'écartement des électrodes ; on place la cellule ainsi préparée sur la platine du microscope ; on l'éclaire comme d'habitude, en choisissant néanmoins pour l'observation, la région située à égale distance des deux électrodes et des cales de verre. Puis les fils sont reliés

aux bornes de la cellule, et l'appareil est prêt à fonctionner. Au cours de la mesure, il faudra éviter les courants de convection et de diffusion, tout changement de température et toute trépidation.

Mettons au point sur la partie supérieure de la préparation, c'est-à-dire contre la face inférieure de la lamelle. Dès que l'on crée le champ électrique, les microbes se déplacent aussitôt vers la cathode. Tout se passe à ce niveau-là comme si leur charge était positive. Reversons le sens du champ : ils reviennent en arrière. Si nous tournons la vis micrométrique de façon à mettre au point un peu plus bas, la vitesse avec laquelle les germes fuient vers la cathode, va aller en décroissant ; à mesure que nous enfonçons le tube du microscope, nous voyons cette vitesse s'annuler, changer de sens, croître de plus en plus jusqu'à atteindre un maximum, lorsque la mise au point a lieu au milieu de l'épaisseur de la couche liquide ; ici les germes vont vers l'anode. Si nous continuons à baisser notre tube du microscope, les phénomènes se dérouleront en sens inverse : la vitesse vers l'anode va diminuer, s'annuler, changer de sens, et le transport se fera de nouveau vers la cathode lorsque nous mettrons au point sur la lame porte-objet elle-même. En somme, nous avons trois couches à considérer : l'une supérieure (contre la lamelle) d'environ 25 à 30 μ , dans laquelle les germes se dirigent vers la cathode ; l'autre moyenne, très épaisse, où les germes vont vers l'anode ; la dernière, inférieure (contre la lame porte-objet), d'épaisseur 25 à 30 μ encore, où les plastides se dirigent aussi vers la cathode. Si nous augmentons l'épaisseur de la préparation, l'épaisseur des couches inverses reste sensiblement la même, mais celle de la couche médiane augmente. Si, au contraire, nous diminuons l'épaisseur de la préparation, la partie centrale du liquide s'amincit de plus en plus, les couches inverses se rejoignent et tous les granules vont vers la cathode. D'où l'importante précaution à prendre relativement à la profondeur que l'on doit donner à la préparation. L'épaisseur des couches inverses dépend de la nature des parois : elle est plus faible avec une paroi de quartz ou de gypse qu'avec une paroi de verre. Le mouvement y est toujours plus lent que dans la couche centrale, et les particules de grosseur diverses ont des vitesses différentes.

Le tableau suivant montre bien l'existence de cette couche inverse :

Profondeur	Déplacement	Temps	Vitesse en μ /sec	Sens du déplacement
0 μ	70 μ	6 sec	11,66	+ → —
7,5	70	8	8,75	+ → —
17,5	70	11 $\frac{2}{5}$	6,14	+ → —
25	70	17	4,12	+ → —
37,5	21	11	1,91	+ ← —
45	28	8,6	3,25	+ ← —
57,5	70	8,2	8,53	+ ← —
62,5	70	7	10	+ ← —
75	98	6,5	16	+ ← —
87,5	84	4,6	18,3	+ ← —
100	98	4,6	21,3	+ ← —
125	98	3,8	25,7	+ ← —
137,5	98	3,6	27,2	+ ← —
150	98	3,2	30,6	+ ← —
175	{ milieu de la préparation }	3	32,6	+ ← —
200		3,4	28,8	+ ← —

{vitesse
nulle

vitesse
maxima

Le graphique correspondant est représenté figure 10.

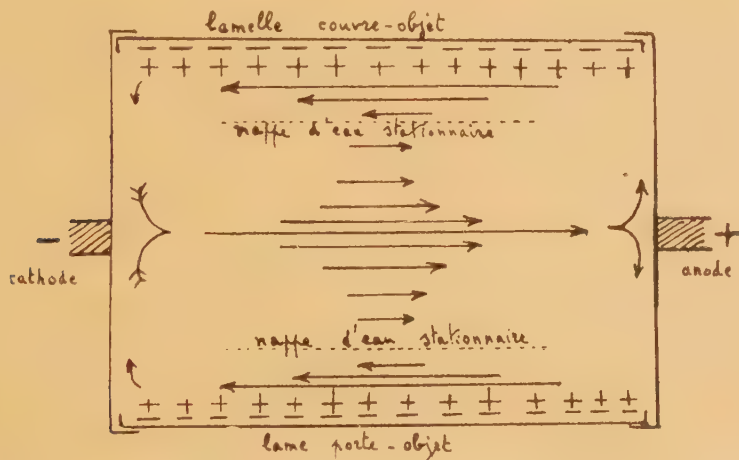


FIG. 10 — Mouvement de l'eau sous l'influence
du champ électrique. —
(empruntée à Falk et Jensen, J. of Bacteriology
XV, Juin 1928, p. 443).

La conclusion pratique est la suivante : pour avoir le véritable sens du transport électrique, il faut mettre au point sur le milieu de la préparation, à égale distance environ entre la lame et la lamelle. Pour avoir la vraie vitesse de déplacement, il faut mettre au point à un niveau situé à $1/5^e$ de la profondeur de la cellule.

En effet, de toutes les hypothèses émises pour expliquer le phénomène des couches inverses, on peut retenir la suivante : au contact du verre de la lamelle tout se passe comme si l'eau prenait une charge positive et était entraînée vers la cathode. A mesure que l'on s'éloigne de la surface de la lamelle, cette charge diminue et finit par s'annuler : à ce niveau, l'eau resterait immobile et la vitesse constatée des microbes serait leur vitesse vraie. En somme, au voisinage du verre (lame et lamelle), l'eau se déplace vers la cathode et entraîne avec elle les microbes. Un courant d'eau inverse doit nécessairement se produire dans la partie centrale de la préparation pour rétablir l'équilibre. Comme ce courant est beaucoup plus large, sa vitesse sera moindre, et la vitesse constatée pour les germes au centre de la cellule sera légèrement supérieure à la vitesse réelle.

L'équation suivante de SMOLUCHOWSKY (1) donne la valeur de la vitesse de l'eau à une profondeur quelconque « x » de la préparation en fonction de l'épaisseur « d » de cette préparation et de la vitesse de l'eau en surface. Soient W_x : la vitesse du liquide à la distance x de la lamelle, W_0 : la vitesse du liquide contre la lamelle, d : la profondeur de la cellule et x la distance de la lamelle à laquelle on observe ; on a :

$$W_x = W_0 \left\{ 1 - 6 \left[\frac{x}{d} - \left(\frac{x}{d} \right)^2 \right] \right\}$$

Cette formule nous permet de connaître à quelle distance x de la lamelle, la vitesse de l'eau s'annule. Il suffit en effet de faire $W_x = 0$; il vient :

$$x = d \left(\frac{1}{2} \pm \sqrt{\frac{1}{12}} \right) \quad \left\{ \begin{array}{l} x_1 = 0,211 d, \text{ très peu différent de } \frac{1}{5} d \\ x_2 = 0,789 d, \text{ » » » de } \frac{4}{5} d \end{array} \right.$$

(1) SMOLUCHOWSKY [161],

D'où la nécessité, comme nous l'annoncions plus haut, de faire porter l'observation sur le niveau $\frac{1}{5}$ de la profondeur totale pour obtenir la vitesse réelle des particules.

D'ailleurs d'une façon générale, si V_x est la vitesse observée des particules au niveau x , V leur vitesse réelle, on a : $V_x = V + W_x$ (algébriquement).

L'équation précédente peut alors se mettre sous la forme :

$$V = V_x - W_0 \left\{ 1 - 6 \left[\frac{x}{d} - \left(\frac{x}{d} \right)^2 \right] \right\}$$

On peut en tirer une série d'expressions qui permettront de calculer rapidement la vitesse réelle V en fonction de la vitesse observée à un niveau x quelconque (par exemple aux niveaux

$$0, \frac{1}{10}, \frac{1}{8}, \frac{1}{6}, \frac{1}{4}, \frac{1}{2} \dots)$$

$$V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}}$$

$$V = 0,52 V_{\frac{1}{10}} + 0,48 V_{\frac{1}{2}}$$

$$V = 0,593 V_{\frac{1}{5}} + 0,407 V_{\frac{1}{2}}$$

$$V = 0,75 V_{\frac{1}{6}} + 0,25 V_{\frac{1}{2}}$$

$$V = 1,333 V_{\frac{1}{4}} - 0,333 V_{\frac{1}{2}}$$

(WALTER KROSS et Margarete ZUELZER) (1).

ELLIS (2), étudiant l'électrophorèse des émulsions d'huile, considère que la vitesse moyenne est la vraie vitesse par rapport à l'eau. Soient a (au lieu de d) la profondeur de la cellule, et M la vitesse moyenne des particules ; celle-ci est évidemment égale à :

$$M = \frac{1}{a} \int_0^a V_x dx$$

Comme $V_x = V + W_x$,

(1) Walter KROSS et Margarete ZUELZER [174], *Centr. f. Bakterio.*, CXXXVI, n° 280, 1932, p. 360.

(2) ELLIS [47], *Z. phys. Chemie*, LXXVIII, 1911, p. 321.

$$M = \frac{1}{a} \int_0^a (V + W_x) dx = V + \frac{1}{a} \int_0^a W_x dx$$

Le dernier terme représente le flux total de l'eau dans la direction de l'axe des x ; comme il est nul, la vitesse moyenne M est la vraie vitesse V par rapport à l'eau.

ELLIS, d'autre part, remarque qu'entre la vitesse de l'eau à la surface du verre et la vitesse au milieu de la préparation, il y a un rapport constant.

Dans une première expérience il trouve :

$$\frac{\text{vitesse au milieu}}{\text{vitesse en surface}} = \frac{2,34 \times 10^{-4}}{4,13 \times 10^{-4}} = 0,566$$

Une expérience de contrôle faite avec une émulsion d'huile contenant de la soude $\frac{1}{1000}$ N lui donne un rapport de 0,563. Ce rapport dépend cependant de la distance entre lame et lamelle ; pour une profondeur de 0 mm 34 il s'élève à 0,61. De plus, lorsque la viscosité de l'émulsion vient à être diminuée, la masse du liquide, qui sous l'action de la couche mobile à la surface du verre se traîne vers la cathode, devient plus petite. Par suite la vitesse le long de l'axe est-elle diminuée, et le rapport est abaissé dans la masse correspondante. En admettant que la valeur de ce rapport soit 0,565, la vitesse de la particule par rapport à l'eau se calcule de la manière suivante :

Soient V la vraie vitesse de la particule par rapport à l'eau,
 V_{ps} la vitesse observée de la particule à la surface du verre,
 V_{pc} la vitesse observée de la particule au centre du liquide,
 V_{ws} la vitesse de l'eau à la surface du verre,
 V_{wc} la vitesse de l'eau au centre du liquide ;

Si nous prenons les vitesses vers l'anode avec le signe +, on aura :

$$V = V_{ps} - V_{ws} \text{ et } V_{wc} = -0,565 V_{ws}$$

$$\text{Mais } V = V_{pc} - V_{wc} = V_{pc} + 0,565 V_{ws}.$$

En égalant les 2 valeurs de V , il vient :

$$V_{ps} - V_{ws} = V_{pc} + 0,565 V_{ws}$$

$$V_{pc} - V_{ps} = -1,565 V_{ws} \text{ ou } V_{ws} = -\frac{V_{pc} - V_{ps}}{1,565}$$

Par suite : $V = V_{ps} + \frac{V_{pc} - V_{ps}}{1,565}$, ce qui donne la vitesse réelle en fonction de la vitesse observée au centre et à la surface.

Confrontons maintenant d'une part, les équations données par Walter KROSS et Margarete ZUELZER, d'autre part celle d'ELLIS et en troisième lieu la méthode de SMOLUCHOWSKI consistant à faire porter l'observation à la profondeur du 1/5 de la préparation. Considérons pour cela notre propre exemple, cité page 79, pour lequel :

Vitesse des particules observée à profondeur 0 = + 11,6

» » » » » » 1/5 = — 16

» » » » » » 1/2 = — 32,6

1^o Appliquons l'équation $V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}}$

Nous avons : $V = 0,333 \times 11,6 - 0,667 \times 32,6 = - 17,7$

2^o Appliquons l'équation : $V = V_{ps} + \frac{V_{rc} - V_{ps}}{1,565}$

Nous aurons : $V = 11,6 - \frac{32,6 - 11,6}{1,565} = - 16,6$

3^o Appliquons la technique de SMOLUCHOWSKI :

Au 1/5 de la profondeur $V = - 16$.

Nous avons là une concordance parfaite des résultats ; les valeurs légèrement différentes trouvées sont comprises dans les limites des erreurs possibles, comme nous le verrons plus loin.

La vraie vitesse de transport sera donc la vitesse observée au niveau situé au 1/5^e de la profondeur de la préparation.

Quand on a mis au point en tenant compte des remarques précédentes, on appuie sur l'interrupteur *c* et l'on suit le déplacement d'une bactérie. Si le mouvement est trop rapide, on réduit l'intensité du champ en diminuant la différence de potentiel entre les bornes. De toutes façons on n'appuie sur l'interrupteur que juste le temps de la mesure, sinon des phénomènes d'électrolyse prennent naissance. En effet, si l'on prolonge le temps de passage du courant, au voisinage des électrodes des

bulles gazeuses se produisent, qui déforment les lignes de force du champ et altèrent le mouvement des particules.

Chaque mesure doit être la moyenne de plusieurs déterminations (cinq environ), sur le même microbe, puis sur d'autres germes ; on doit également renverser le sens du champ et suivre par exemple une bactérie plusieurs fois dans le champ en la faisant aller et revenir : comme la mise en marche dans le champ électrique est instantanée ou du moins comme le temps d'installation du déplacement est négligeable ($2/100^{\text{e}}$ sec., p. 54) à côté du temps d'observation, ce procédé a l'avantage de réduire les erreurs en augmentant la durée de transport.

Signalons à ce propos les observations que l'on peut faire avec le courant alternatif. Par l'emploi d'une force électromotrice alternative (de 110 volts et 50 périodes par seconde), on voit immédiatement chaque point lumineux, si l'on regarde sur fond noir, se transformer en une droite brillante en particulier à ses extrémités. C'est dire que les particules se mettent à vibrer. En effet, si d'un mouvement rapide on déplace la préparation perpendiculairement à ces petites droites, il se dessine une courbe ondulée visible grâce à la persistance des impressions rétinienne (COTTON et MOUTON). La période de vibration des particules est la période même du secteur. Dans un champ alternatif sinusoïdal dont la valeur efficace est V volts/cm, dont la fréquence est N périodes/sec, une particule de mobilité u μ /sec pour un champ de I volt/cm oscille entre deux positions distantes de :

$$l = \frac{Vu \sqrt{2}}{\pi N} \mu$$

Considérons une particule de mobilité $3,8 \mu$ dans le champ alternatif 110 volts 50 périodes, sous $5^{m,5}$, et admettons qu'elle prenne à chaque instant la vitesse de régime qu'on observerait dans un champ constant de même intensité, ce qui revient à négliger l'inertie de la particule. On trouve que la distance l entre les deux positions extrêmes de la particule doit être environ 8μ . Or, on observe une amplitude de 7μ environ. Ces deux valeurs sont donc d'accord, d'autant qu'on a négligé l'inertie de la particule. En assimilant cette dernière à une masse matérielle m chargée d'une quantité d'électricité e , la longueur l' du segment décrit doit être inférieure à l . De la compa-

raison des résultats, on peut théoriquement déduire le rapport entre la masse de la particule et la charge qui la met en mouvement. Si m est en grammes et e en unités électromagnétiques, on a :

$$\frac{m}{e} = \frac{10^{12}}{2\pi Nu} \sqrt{\frac{l^2}{l'^2} - 1} \quad (\text{COTTON et MOUTON}).$$

Cette formule montre que l'on ne peut guère espérer constater une différence entre l et l' que si l'on emploie des fréquences considérables.

En résumé, on établit une série de valeurs de la vitesse à différents niveaux, que l'on porte sur un graphique. On mesure avec un voltmètre la différence de potentiel aux bornes. On obtient facilement la mobilité ou espace parcouru en une seconde, dans un champ de un volt par centimètre. Si v est la vitesse,

$\left(v = \frac{x - x_0}{t} = \frac{\text{espace}}{\text{temps}} \right)$ et si H est l'intensité du champ électrostatique $\left(H = \frac{V}{l} = \frac{\text{différence de potentiel}}{\text{distance des électrodes}} \right)$, la mobilité sera :

$$u = \frac{v}{H}.$$

3° Approximation des résultats. — a) *Distance parcourue* : Le micromètre comporte 90 divisions ; chacune d'elles représente $1 \mu, 55$. Ce sera la dimension du microbe considéré qui fixera la grandeur de l'erreur commise dans la lecture. Supposons un brucella couvrant $1/2$ division : au départ et à l'arrivée, nous aurons une erreur de $1/2$ division, soit une division entière au total.

Dans le cas d'un coccus couvrant les $2/3$ ou une division, l'erreur croîtra et sera de 1 division $1/2$. Un bacille de 2 ou 3 μ de long entraîne une erreur plus importante : s'il s'orientait d'abord, et parcourait tout le champ du microscope suivant son axe longitudinal, on pourrait suivre l'une de ses extrémités, noter le moment où elle quitte une division et celui où elle arrive à l'autre ; mais le mouvement brownien s'ajoute le plus souvent au transport électrophorétique sous faible champ (nous verrons

dans quel cas il y a orientation avant déplacement) et de ce fait le bacille ne se déplace plus suivant son axe, mais tourne. Bref, il faut bien compter une erreur absolue d'une division et demi à deux divisions ; comme on suit les déplacements sur 90 divisions, l'erreur relative sera : $\frac{2}{90} = 2,2 \%$ environ.

b) *Temps* : L'erreur sur la mesure du temps est d'autant plus grande qu'on observe pendant un temps plus court. D'où l'intérêt qu'il y aurait à l'augmenter en effectuant l'électrophorèse sous de faibles champs électrostatiques. Nous verrons qu'il n'y a, à cela, aucun inconvénient, puisque les vitesses sont proportionnelles aux champs. Le chronomètre étant au $1/5^e$ de seconde, l'erreur au départ et à l'arrêt sera de $1/10^e$ de seconde ; l'erreur absolue totale est de $1/5^e$ de sec. L'erreur relative variera avec chaque détermination. Il sera donc indispensable de l'établir chaque fois. Par exemple avec un temps de 5 sec., l'erreur sera du $1/25^e$; avec un temps de 20 sec., elle deviendra du $1/100^e$.

c) *Différence de potentiel* : Elle est connue au $1/4$ de volt près jusqu'à 10 volts, et au-dessus au $1/2$ puis au volt près. L'erreur est évaluée au $1/40 = 2,5 \%$.

d) *Ecartement des électrodes* : La graduation qui l'indique est en millimètres. On évalue facilement le $1/4$ de division ; comme l'écartement est ordinairement 20 mm., l'erreur sera :

$$\frac{1}{4} \times 2 \times \frac{1}{20} = \frac{1}{40} = 2,5 \%$$

L'erreur totale, somme de toutes les erreurs partielles, s'élèvera à environ 8 à 10 % suivant la grosseur des germes étudiés et le temps de passage. Cela veut dire que si un microbe a pour mobilité le chiffre 4,50, tous ceux pour lesquels on trouvera une

valeur comprise entre 4,28 et 4,72, seront considérés comme ayant la même mobilité.

Dimensions des germes.

Nous avons eu parfois besoin de connaître les volumes des germes étudiés. Pour cela nous avons d'abord déterminé leurs dimensions. A l'aide de la chambre claire, la chose est relativement facile :

1^o Marche à suivre : la préparation contenant les germes à mesurer, est projetée sur un papier sur lequel sont inscrites les divisions d'un micromètre-objet.

On évalue, pour un nombre suffisamment grand de microbes, combien leurs dimensions couvrent de divisions. On en déduit les valeurs réelles en μ de leurs longueur, largeur, épaisseur.

2^o Approximation des résultats : Disposons notre expérience pour que, en employant un fort grossissement, la plastide bactérienne considérée couvre au moins une longueur de 5 ou 6 millimètres sur le papier. Dans ces conditions, l'erreur absolue ne dépassant pas le $\frac{1}{4}$ de mm., l'erreur relative devient $\frac{1}{20}$ à $\frac{1}{24}$ soit 4 à 5 % environ. On répète d'ailleurs un grand nombre de fois l'expérience sur tout un lot de microbes, et l'on prend une moyenne.

Si l'on veut déterminer une surface ou une section droite, les erreurs se multiplient. En effet, la surface d'un microbe ne présente pas de formes géométriques bien définies. Un *Brucella* par exemple, peut être assimilé soit à un cylindre renflé au milieu, soit à une sphère aplatie aux deux pôles. Les erreurs seront d'abord élevées au carré du fait de l'évaluation d'une aire, et de plus elles seront augmentées encore par l'imprécision de la surface géométrique envisagée. Lorsque nous aurons à considérer l'aire de la section droite d'un germe, nous nous contenterons d'évaluer la surface du cercle dont le diamètre vaut la largeur du microbe.

PH des suspensions.

Nous avons toujours employé la méthode électrométrique, dont la précision et la rapidité sont supérieures à la méthode colorimétrique. Nous nous sommes servis des électrodes à hydrogène rotatives de LECOMTE DU NOUY parce qu'elles nécessitent seulement 3 ou 4 dixièmes de cm^3 de solution, que l'équilibre est rapidement atteint, et qu'elles empêchent toute perte possible de CO_2 .

1^o Description des appareils.

a) Pour la description et l'utilisation de l'appareillage de LECOMTE DU NOUY, nous renvoyons au livre et aux notes de l'auteur, dont nous extrayons les figures 11, 12 et 13 (1).

b) Potentiomètre, galvanomètre : potentiomètre et galvanomètre de LEEDS et NORTHROP ont été étalonnés pour différentes températures ; nous avons ainsi établi un grand diagramme donnant la valeur du pH en fonction de la différence du potentiel en millivolts. La lecture est, de ce fait, grandement facilitée. A noter qu'en cinq minutes environ, l'équilibre est atteint : la différence de potentiel ne varie plus.

2^o Approximation des résultats.

Notre graphique indique un accroissement de $\frac{17}{1000}$ d'unité de pH pour une augmentation de 1 millivolt. Comme notre appareil nous permet de déterminer les différences de potentiel au millivolt près, les pH ne seront connus qu'à 0,017 près, c'est-à-dire que toute valeur du pH sera : $x \pm 0,0085$. Pratiquement, nous prendrons : $x \pm 0,01$, ce qui porte l'erreur à 2 %.

(1) LECOMTE DU NOUY, « Méthodes physiques en biologie et en médecine », Baillière et fils, Paris, 1933 : — LECOMTE DU NOUY et Mlle V. HAMON, *Bull. Soc. Ch. Bio.*, XVI, février 1934, p. 177.

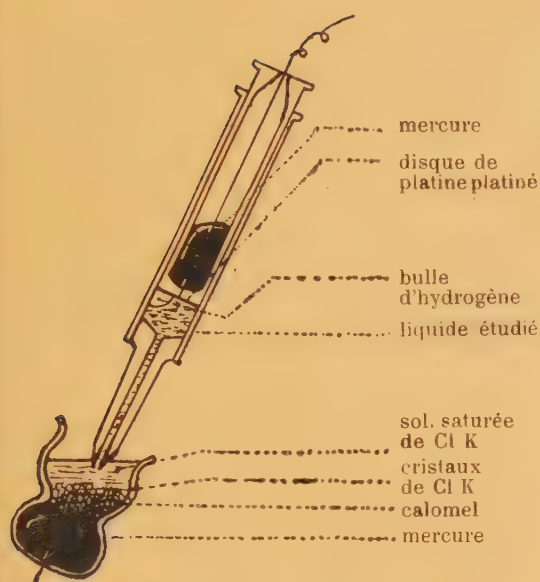


FIG. 11

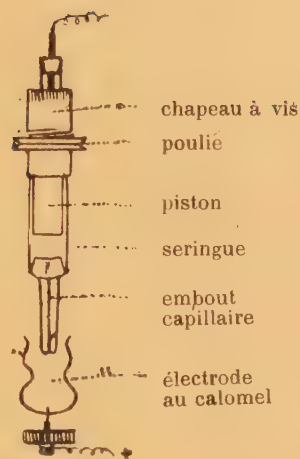


FIG. 12

Electrode à Hydrogène et pile au calomel de Lecomte du Nouÿ

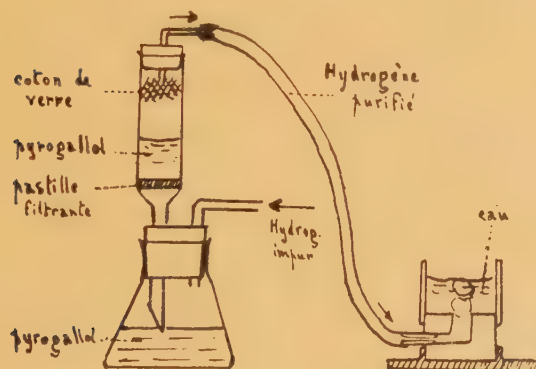


FIG. 13. — Purification de l'Hydrogène.

Conductibilité des suspensions.

Elle représente la propriété que possède un corps, de conduire plus ou moins facilement l'électricité. Elle s'exprime par $\sigma = \frac{I}{\rho}$, ρ étant la résistivité, c'est-à-dire la résistance d'un volume de ce corps, de 1 cm. de long et 1 cm² de section.

La résistance d'une colonne de liquide est mesurée dans une cellule spéciale d'une capacité donnée (constante C calculée une fois pour toutes), par la méthode du pont de Wheatstone, dans



Fig. 14

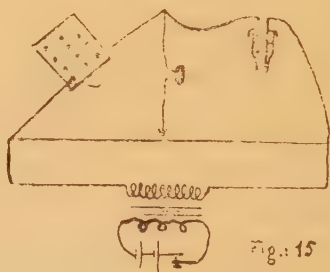


Fig. 15

lequel on envoie un courant alternatif, afin d'éviter la polarisation du liquide étudié, et l'on remplace le galvanomètre par l'écouteur téléphonique.

1° Description des appareils : nous avons utilisé le matériel de F. KOHLER (Leipzig).

a) *la cuve* : elle a la forme représentée (fig. 14). Les deux électrodes parallèles sont constituées de deux disques de platine platinés, fixés par un petit tube de verre scellé à un bouchon. La résistance mesurée est celle du liquide contenu entre les deux électrodes.

On sait que $R = \rho \frac{l}{s}$, si R est la résistance du corps, ρ sa résis-

tivité, l sa longueur et s sa section. Ici $\frac{l}{s}$ représente une constante : c'est le volume compris entre les 2 électrodes de la cuve ; cette constante C est égale, pour la cuve dont nous nous sommes servis, à 0,324. D'où :

$$\rho = \frac{R}{C} = \frac{R}{0,324} \text{ ohm/cm/cm}^2$$

$$\text{et } \sigma = \frac{I}{\rho} = \frac{C}{R} = \frac{0,324}{R} \text{ mho/cm/cm}^2$$

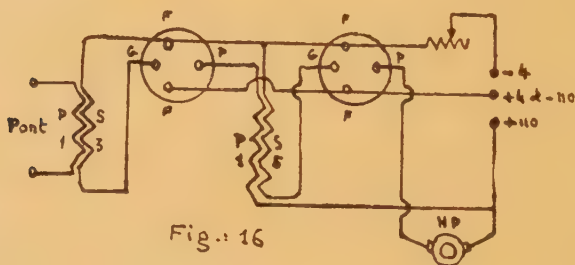
b) *Thermostat* : la conductibilité étant très influencée par les variations de température, il est indispensable de maintenir la cuve dans un thermostat : Un régulateur de température à gaz maintient constante à $\frac{1}{40}$ de degré près, la température d'une masse de 8 litres environ d'eau distillée, agitée continuellement grâce à un petit moteur.

c) *Le pont* : schématiquement constitué comme l'indique la fig. 15. Une petite bobine d'induction alimentée par 4 volts, donne au secondaire un courant alternatif de fréquence musicale qui, entrant dans le pont, traverse des boîtes de résistance, la cuve et le fil de platine rectiligne placé sur une règle millimétrée. Le minimum de courant est perçu par un écouteur téléphonique de 1000 ohms. — Nous avons amélioré la lecture au son en amplifiant le courant téléphonique par deux triodes basse fréquence et un haut parleur (fig. 16). Mais ce dispositif n'améliore pas la sensibilité de l'appareil. En effet, la zone de silence est toujours la même : le seul avantage est celui de la commodité d'audition. A la suite d'une visite instructive que nous avons faite au laboratoire de LASSEUR ⁽¹⁾, nous avons songé à prendre comme source de courants alternatifs, une oscillatrice de haute fréquence. A la sortie du pont on place une détectrice et l'amplificateur précédent.

⁽¹⁾ LASSEUR, JOUAVILLE, DUPAIX et MARCHAL, *Bull. Ass. Dipl. Microb. Fac. Pharm. Nancy*, n° 6, mai 1933, p. 41.

2° Marche à suivre :

La quantité de liquide à verser dans la cellule doit être toujours la même : les deux disques de platine doivent entièrement y plonger, sans présenter sur leur surface la moindre bulle d'air. On laisse la température de la cellule se mettre en équilibre avec celle du thermostat, et l'on connecte les fils (contacts à mercure). Lorsqu'on fait des mesures en série, le lavage de la cellule consistera à la rincer plusieurs fois, ainsi que les électrodes, avec le liquide dont on veut mesurer la conductibilité. Quand la température s'est fixée, l'on fait passer le courant



alternatif et l'on écoute. Les appareils doivent être étalés sur la table ou isolés électriquement par des cages de Faraday.

Le courant ne passera que juste le temps de la mesure, sinon un échauffement se produirait. Pratiquement, on prend la moyenne de deux ou trois déterminations, faites chacune avec du liquide neuf.

3° Approximation des résultats :

$$\sigma = \frac{C}{R}$$

a) *Erreur sur C* : l'erreur sur la caractéristique de la cuve a été déterminée à partir de la mesure de la conductibilité de solutions de chlorure de potassium. On considère une solution

normale de ClK. On en mesure la résistance. Comme sa conductibilité est connue, on en déduit C. Plusieurs déterminations nous ont conduit à prendre C égal à 0,324, à 1 % près.

b) *Erreur d'interprétation du son minimum* : Pour les faibles résistances (inférieures ou de l'ordre de 100 ohms), les positions limites du curseur sur la règle graduée sont généralement éloignées d'un millimètre. L'approximation est donc excellente : elle atteint le $\frac{1}{1000}$. Mais, pour les résistances élevées, les positions limites s'écartent, jusqu'à atteindre parfois un bon centimètre : il n'y a plus silence proprement dit, mais minimum de son. Encore, l'amplification et l'emploi de la haute fréquence, permettent-ils de réduire cette erreur qui, dans les cas défavorables, atteint 1 %. Si le résultat est exprimé en conductibilité, l'erreur totale maxima sera : 2 %.

RESULTAT DE NOS RECHERCHES EXPERIMENTALES

PREMIÈRE PARTIE

Propriétés électriques des suspensions microbiennes.

Tout phénomène physique ou biologique doit être situé dans le temps. Les suspensions microbiennes sont des phases en perpétuelle évolution ; nous nous proposons d'envisager et d'étudier leurs propriétés électriques dès l'instant de leur naissance. Mais, comme les expériences que nous faisons sur elles, malgré la rapidité (qui ne doit pas s'opposer à une certaine précision) avec laquelle nous les menons, s'échelonnent forcément sur un certain intervalle de temps, nous nous sommes demandé quelle pouvait être la durée maxima pendant laquelle on peut considérer le système comme en état d'équilibre invariable. Pour cela, il faut étudier en fonction du temps, l'une des propriétés des suspensions : celle qui est le plus susceptible de varier dans le temps minimum. Or, ce qui provoque la rupture d'équilibre, c'est le passage de substances, ionisées ou non, du microbe vers

le milieu émulsionnant. Il s'en suit une répartition nouvelle des charges, qui, si elle est délicate à déterminer par l'électrophorèse ou la mesure du pH, est facilement décelable par l'étude de la conductibilité électrique. Nous allons donc rechercher les variations, en fonction du temps, de la conductibilité des émulsions bactériennes.

1^o Conductibilité électrique des suspensions microbiennes, en fonction du temps.

LASSEUR et NOBLAT ⁽¹⁾ font remarquer que la conductibilité diminue avec les lavages successifs à l'eau distillée ; dans une suspension fraîche, les électrolytes proviennent du verre, du milieu de culture et des corps microbiens (par diffusion dans le liquide dispersif).

Pour déterminer cette diffusion, le moyen le plus simple consiste à placer la suspension, dès qu'elle est préparée, dans la cuve à conductibilité et d'effectuer les mesures tous les 1/4 d'heure par exemple. Si la conductibilité augmente, c'est que les particules auront cédé des électrolytes qui se seront ionisés dans le liquide dispersif. La grosse objection à formuler est la suivante : les ions qui passent dans le liquide proviennent non pas des microbes mais du récipient qui les contient. En effet, même dans un vase parfaitement propre et à l'abri de toute poussière, il y a diminution de la pureté de l'eau avec le temps, les parois du vase étant attaquées par le liquide qui les baigne. Nous avons voulu nous rendre compte de ce que cède la cuve à conductibilité dont nous nous servons. Pour cela, nous y avons placé soit de l'eau bi-distillée, soit de l'eau distillée, soit de l'eau stérilisée, et nous avons suivi toutes les cinq ou dix minutes l'augmentation de sa conductibilité. Le résultat de ces recherches est le suivant (rappelons le travail de RIMATTÉI ⁽²⁾), très

⁽¹⁾ LASSEUR et NOBLAT [94], « Conductivité des suspensions bactériennes », Trav. Labo. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1928.

⁽²⁾ RIMATTÉI [141], *Thèse médecine*, Marseille, 1931, et *Revue Médicale de France et des Colonies*, janvier 1927.

intéressant à cet égard, concernant « l'eau pure, sa préparation, son identification et sa conservation », duquel nous extrayons les chiffres instructifs suivants) :

a) Expériences de RIMATTEI (à 18°)

1^{er} échantillon d'eau :

Conductivité de l'eau à 14 h. : $1,14 \times 10^{-6}$

» » à 16 h. : $3,5 \times 10^{-6}$

2^e échantillon d'eau :

Conductivité de l'eau à 9 h. 45 : $1,02 \times 10^{-6}$

» » à 10 h. : $1,2 \times 10^{-6}$

soit une augmentation de 0,18 en 1/4 d'heure, ce qui fait une variation de 17 % par 1/4 d'heure.

3^e échantillon d'eau :

Conductivité de l'eau à 15 h. 30 : $1,47 \times 10^{-6}$

» » à 15 h. 35 : $1,83 \times 10^{-6}$

» » à 15 h. 45 : $2,53 \times 10^{-6}$

» » à 16 h. : $2,93 \times 10^{-6}$

» » à 16 h. 22 : $3,78 \times 10^{-6}$

» » à 16 h. 45 : $4,8 \times 10^{-6}$

b) Expériences personnelles (à 18°).

1^{er} échantillon d'eau :

Conductivité : $3,08 \times 10^{-6}$

» 16 h. après : 13×10^{-6}

2^e échantillon d'eau :

Conductivité à 9 h. 30 : $4,3 \times 10^{-6}$

» à 11 h. 30 : $5,4 \times 10^{-6}$

» à 14 h. 30 : $8,1 \times 10^{-6}$

3^e échantillon d'eau :

Conductivité à 15 h. 25 :	6,3	$\times 10^{-6}$
» à 15 h. 40 :	6,47	$\times 10^{-6}$
» à 15 h. 55 :	6,75	$\times 10^{-6}$
» à 16 h. 10 :	6,75	$\times 10^{-6}$
» à 16 h. 25 :	6,80	$\times 10^{-6}$

4^e échantillon d'eau :

Conductivité à 11 h. 05 :	17	$\times 10^{-6}$
» à 11 h. 10 :	17,3	$\times 10^{-6}$
» à 11 h. 15 :	17,1	$\times 10^{-6}$
» à 11 h. 20 :	17,2	$\times 10^{-6}$
» à 12 h. 05 :	17,7	$\times 10^{-6}$
» à 13 h. 50 :	19	$\times 10^{-6}$
» à 17 h. 05 :	20,9	$\times 10^{-6}$

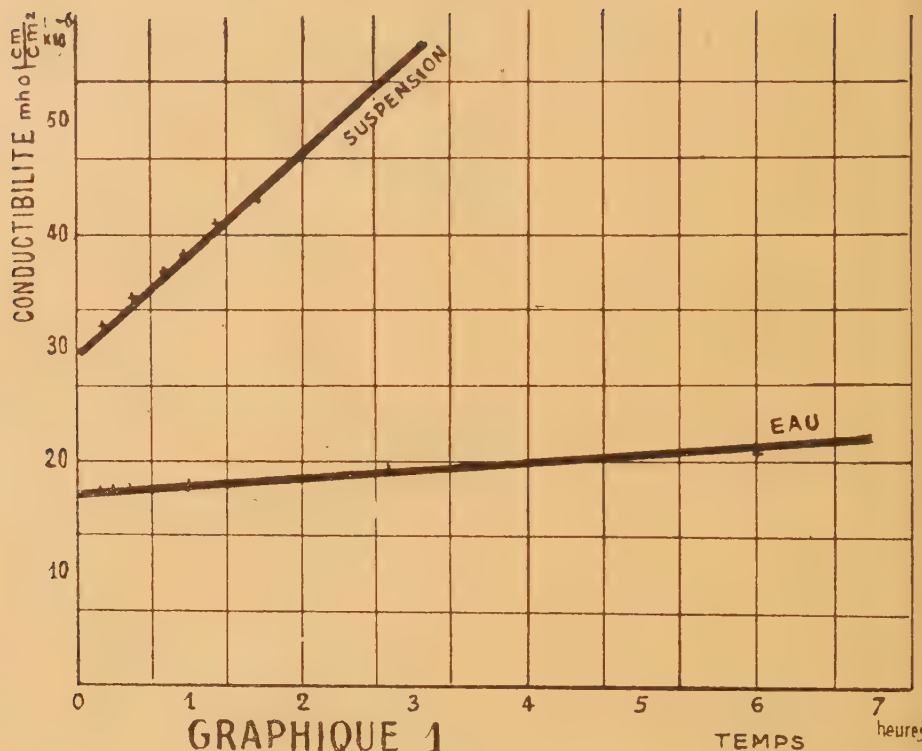
(Voir graphique I.)

Ces quelques exemples montrent que l'augmentation de la conductibilité de l'eau abandonnée dans le récipient est relativement importante, et appréciable même parfois après seulement 5 minutes.

c) **L'analyse des résultats de RIMATTEÏ** nous indique que cette augmentation est d'autant plus importante que la conductibilité du liquide considéré est plus élevée. C'est ainsi que :
eau de conductibilité augmentation moyenne par 1,4 d'heure :

1,02 $\times 10^{-6}$	0,18 $\times 10^{-6}$, soit	17 %
1,14	0,3	» 26 %
1,47	0,66	» 44 %

Nos expériences semblent au contraire montrer que la cuve que nous utilisons abandonne une quantité constante d'ions quelque soit la conductibilité de l'eau introduite :



GRAPHIQUE 1

eau de conductibilité : augmentation moyenne par 1/4 d'heure :

3×10^{-6}	$0,16 \times 10^{-6}$, soit 5 %
$4,3 \times 10^{-6}$	$0,17 \times 10^{-6}$, » 4 %
$6,3 \times 10^{-6}$	$0,15 \times 10^{-6}$, » 2,4 %
17×10^{-6}	$0,17 \times 10^{-6}$, » 1 %

On voit que ces variations deviennent de moins en moins appréciables à mesure que l'on étudie des liquides de plus en plus conducteurs, car la variation moyenne par 1/4 d'heure devient égale ou inférieure aux erreurs commises, qui sont de l'ordre de 2 % pour ces liquides encore très résistants. Avec de l'eau de conductivité voisine de 10×10^{-6} , nous admettrons

que sa variation de conductibilité est négligeable pendant le premier $1/4$ d'heure, mais qu'elle devient appréciable à partir du second. Avec de l'eau voisine de 20×10^{-6} l'augmentation de conductibilité devient appréciable à partir du troisième quart d'heure.

d) Envisageons maintenant les **variations de conductibilité des suspensions microbiennes.**

Rappelons en quelques mots la technique de préparation de ces émulsions : on délaie dans de l'eau distillée stérile, la culture d'un ou de plusieurs (suivant les germes) tubes de gélose ; cette première émulsion microbienne est lavée plusieurs fois (3 ou 4) avec de l'eau distillée stérile.

Au moment où l'on veut procéder aux expériences, le culot de centrifugation final est émulsionné dans le volume minimum d'eau. On répartit ensuite tant de gouttes ou de $1/10$ cc. de cette suspension-mère dans des tubes préalablement emplis de la quantité voulue d'eau stérile.

Nous avons placé une suspension quelconque ainsi préparée dans la cuve à conductibilité et nous avons suivi, montre en mains, les variations de sa résistance.

1^{er} exemple :

Eau distillée stérile : conductivité : $21,6 \times 10^{-6}$

Conductivité de la suspension à 14 h. 30 : $29,4 \times 10^{-6}$

» » » à 14 h. 45 : $31,7 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. : $34,1 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. 15 : 36×10^{-6}

» » » à 15 h. 30 : $38,1 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. 45 : $40,5 \times 10^{-6}$

» » » à 16 h. : $42,6 \times 10^{-6}$

(voir graphique I)

Augmentation moyenne par $1/4$ d'heure : $2,2 \times 10^{-6}$

En retranchant la quantité due aux ions cédés par la cuve, il reste : $2,2 - 0,17$ très peu différent de 2×10^{-6}

2^e exemple :

Eau distillée stérile : conductibilité : 13×10^{-6}

Conductivité de la suspension à 14 h. 50 : 22×10^{-6}

» » » à 14 h. 55 : $23,6 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. : $23,1 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. 10 : 24×10^{-6}

» » » à 15 h. 20 : $24,5 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. 30 : $25,7 \times 10^{-6}$

» » » à 15 h. 40 : 27×10^{-6}

» » » à 15 h. 50 : $28,1 \times 10^{-6}$

» » » à 16 h. 05 : $29,4 \times 10^{-6}$

» » » à 16 h. 15 : $30,2 \times 10^{-6}$

» » » à 16 h. 25 : $30,8 \times 10^{-6}$

Augmentation moyenne par 1/4 d'heure : $1,37 \times 10^{-6}$

Augmentation moyenne vraie due aux substances diffusées par les microbes : $1,37 - 0,17 = 1,2 \times 10^{-6}$.

Ces variations sont-elles ou non négligeables ?

Dans le premier cas, nous venons de trouver que la conductibilité augmente chaque 15 minutes, de 2×10^{-6} . Si l'on rapporte cet accroissement à la conductivité initiale de la suspension, on trouve que l'accroissement est égal à $2/30$, c'est-à-dire à 6,5 % de la conductivité de la suspension. Dans le second cas, le même rapport nous donne 5 %. Ces nombres étant supérieurs aux erreurs qu'il est possible de commettre, les variations considérées ne sont pas négligeables. Elles le deviendraient, si elles ne portaient que sur les cinq premières minutes.

Dans les exemples qui précèdent, on peut donc considérer, du point de vue de la conductibilité, les suspensions comme en équilibre invariable, pendant environ cinq minutes, non parce

que les microbes qu'elles renferment ne diffusent aucun électrolyte pendant cet intervalle de temps (nous savons qu'il n'en est rien), mais bien parce que notre méthode est trop imprécise pour apprécier une variation minime pendant ce temps relativement court.

Nous voici donc contraints de ne garder nos suspensions que pendant cinq minutes : temps vraiment trop bref pour effectuer plusieurs déterminations.

Aussi, sommes-nous réduits à la technique suivante : préparer extemporanément avant chaque détermination, à partir de la solution-mère (culot délayé dans quelques gouttes seulement d'eau distillée stérile) (p. 69), la suspension à étudier ; ou bien, si l'on n'a qu'une série de 3 ou 4 suspensions, de concentration croissante, étudier leurs propriétés en commençant par la plus diluée, puis re préparer les mêmes suspensions, et refaire les mêmes déterminations en commençant cette fois par la plus concentrée ; prendre la moyenne des résultats obtenus. On atténuera ainsi, dans la plus large mesure, les erreurs dues à « l'évolution » des suspensions microbiennes.

Les premiers résultats que nous citerons sont ceux trouvés pour les vitesses d'électrophorèse microscopique entre lame et lamelle. L'électrophorèse fut, en effet, le point de départ de nos recherches ; c'est par elle que nous déterminons la charge électrique des microbes.

2^o Des vitesses d'électrophorèse microscopique à différents niveaux de la préparation.

A. — Rappelons en quelques mots, les faits classiques observés (voir p. 78).

L'épaisseur de la préparation se divise en trois couches : l'une supérieure, contre la lamelle (d'épaisseur égale au $\frac{1}{5}$ de l'épaisseur totale), dans laquelle les germes se dirigent vers la cathode ; l'autre, moyenne, d'épaisseur $\frac{3}{5}$ de la préparation, où les germes vont vers l'anode ; la troisième, inférieure, contre la lame porte-objet (et d'épaisseur $\frac{1}{5}$), où les plastides se dirigent vers la cathode. Si l'on augmente la profondeur de la préparation, l'épaisseur des couches inverses restant sensiblement la même, celle de la couche médiane augmente. Si l'on réduit, au contraire, l'épaisseur de la préparation, les couches inverses se rejoignent et tous les granules vont vers la cathode comme s'ils étaient chargés positivement.

B. — Ayant construit nous-mêmes une série de cellules de profondeurs différentes, les constatations énoncées ci-dessus ont pu être aisément vérifiées. Nous avons alors employé l'une de ces cellules de profondeur bien déterminée et entrepris de vérifier les diverses méthodes qui donnent la vraie vitesse d'une particule (p. 83).

Certains auteurs, en effet, conseillent de faire porter l'examen sur deux niveaux différents (surface et milieu) et de faire une moyenne des résultats trouvés suivant une formule qu'ils éta-

blissent ; d'autres, indiquent qu'à $\frac{1}{5}$ de la profondeur totale, la vitesse observée des particules est leur vitesse vraie.

Voici les résultats de quelques-unes de nos déterminations :

a) Cellule de 350 μ de profondeur, microbe employé : *staphylocoque doré* :

profondeur en μ	Vitesse de déplacement en μ /seconde.	Sens du déplacement	
		+	-
0	11,66		→
7,5	8,75		→
17,5	6,14		→
25	4,12 (vitesse nulle)		→
37,5	1,91		←
45	3,25		←
57,5	8,53		←
62,5	10		←
75	16		←
87,5	18,3		←
100	21,3		←
125	25,7		←
137,5	27,2		←
150	30,6		←
175 (milieu de la préparation)	32,6 (vitesse maxima)		←
200	28,8		←

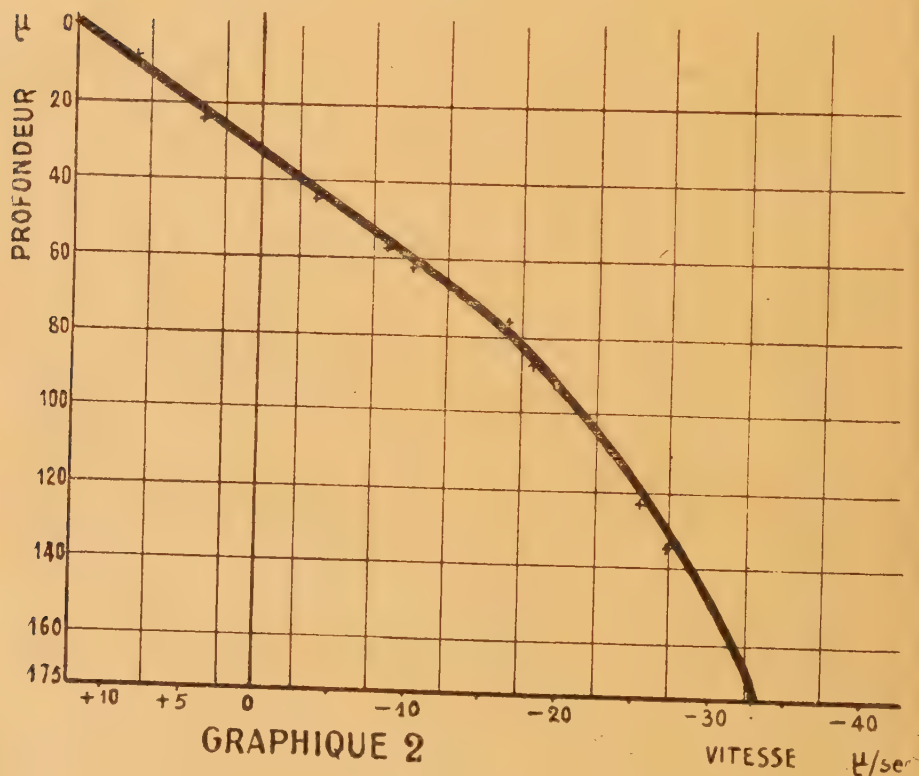
Les trois formules proposées donnent :

$$V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}} = 0,333 \times 11,66 + 0,667 \times 32,6 = 17,7$$

$$V = V_0 + \frac{V_{\frac{1}{2}} - V_0}{1,565} = 11,66 + \frac{32,6 - 11,66}{1,565} = 16,6$$

$$V_{\frac{1}{5}} = 16$$

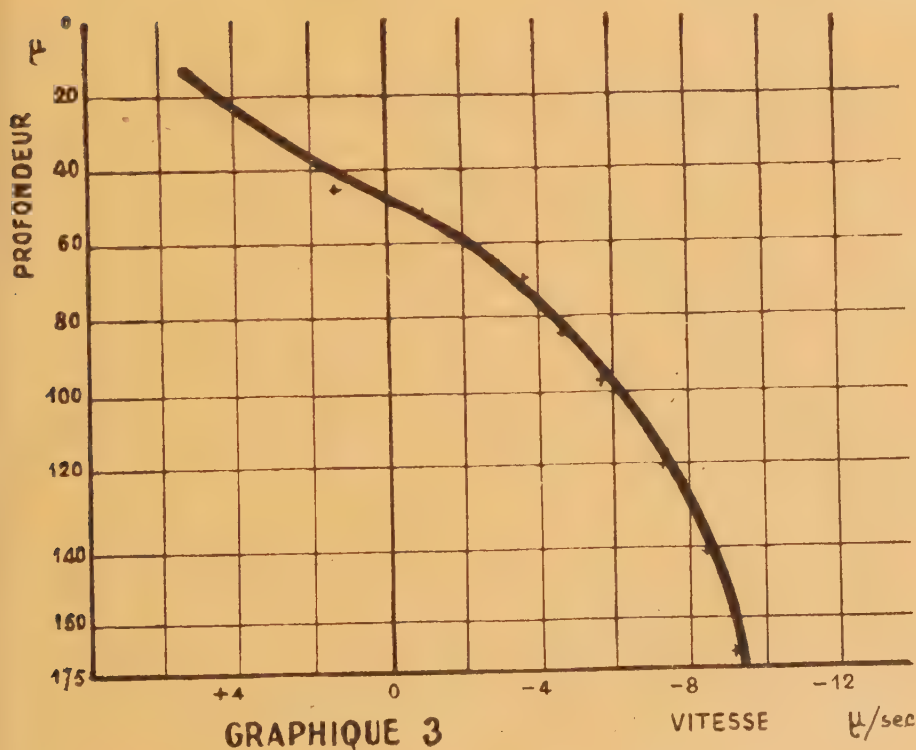
Les trois résultats sont concordants : en effet, l'erreur possible maxima admise étant de 8 %, les valeurs précédentes peuvent varier de 1,4 unité, soit de 16 à 17,4. La valeur 17,7 représente une erreur de 10 % au lieu de 8 %. — Courbe : graphique 2.



b) Exemple d'une autre détermination sur le *brucella melitensis* avec la même cellule de 350 μ .

(Nous affecterons dorénavant du signe + les vitesses des particules allant vers la cathode, et du signe — celles allant vers l'anode.)

Profondeur en μ	Vitesses de déplacement en μ /seconde.
19	+ 4,5
24	+ 4
48	+ 1,25
53	— 1,1
58	— 1,8
70	— 3,6
84	— 4,8
96	— 5,6
120	— 7,5
144	— 8,6
170	— 9,2
190	— 8,8



Le calcul des vitesses donne :

$V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}}$ = ne peut s'appliquer ici car nous n'avons pas V_0 .

Nous prendrons :

$$V = 0,75 V_{\frac{1}{6}} + 0,25 V_{\frac{1}{2}} = -0,75 \times 1,8 - 0,25 \times 9,3 = -3,7.$$

Les autres formules donnent : $V_{\frac{1}{5}} = -3,6$.

Ici, l'accord est parfait (erreur permise : 0,3 ; marge des résultats : 0,1).

c) Même cellule de 350 μ avec un *brucella abortus* :

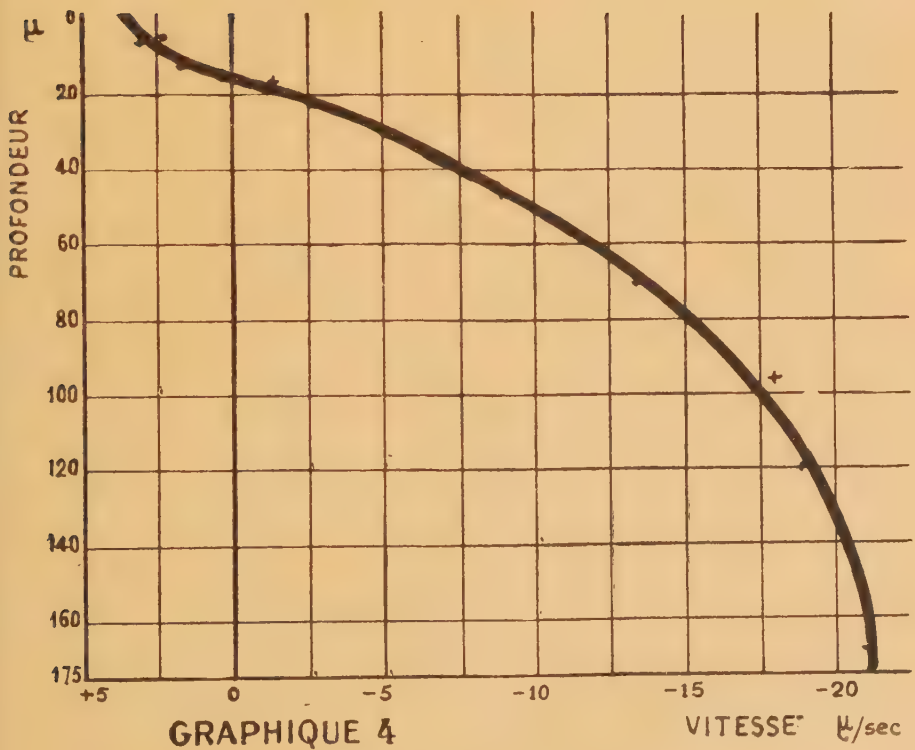
Profondeur en μ	Vitesses de déplacement en μ /sec.
0	+ 3,36
6	+ 3
7,2	+ 2,9
12	+ 1,66
14,4	+ 0,27
17	— 1,44
24	— 3
48	— 9
60	— 12
72	— 13,5
96	— 18
120	— 19
168	— 21
175	— 21,1

Vitesses réelles : $V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}} = -12,9$

$$V = V_{\frac{1}{2}} + \frac{V_{\frac{1}{2}} - V_0}{1,565} = -12,4$$

$$V_{\frac{1}{5}} = -13,3$$

Résultats concordants. (Erreur permise : 1,06 ; marge des résultats : 0,9.)



d) Même cellule de 350 μ avec des *bacilles de Löffler* :

Profondeur en μ	Vitesse de déplacement en μ /sec.
0	+ 1,16
35	— 0,58
70	— 1,94
105	— 2,33
140	— 2,90
175	— 3,3

Vitesses réelles : $V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}} = - 1,82$

$$V = V_0 + \frac{V_{\frac{1}{2}} - V_0}{1,565} = - 1,70$$

$$V_{\frac{1}{5}} = - 1,94.$$

Résultats assez satisfaisants (erreur permise : 0,16 ; marge des résultats : 0,24). (Graphique 5.)

e) Même cellule de 350 μ avec des *bacilles de Koch* (souche *Vallée* bovine).

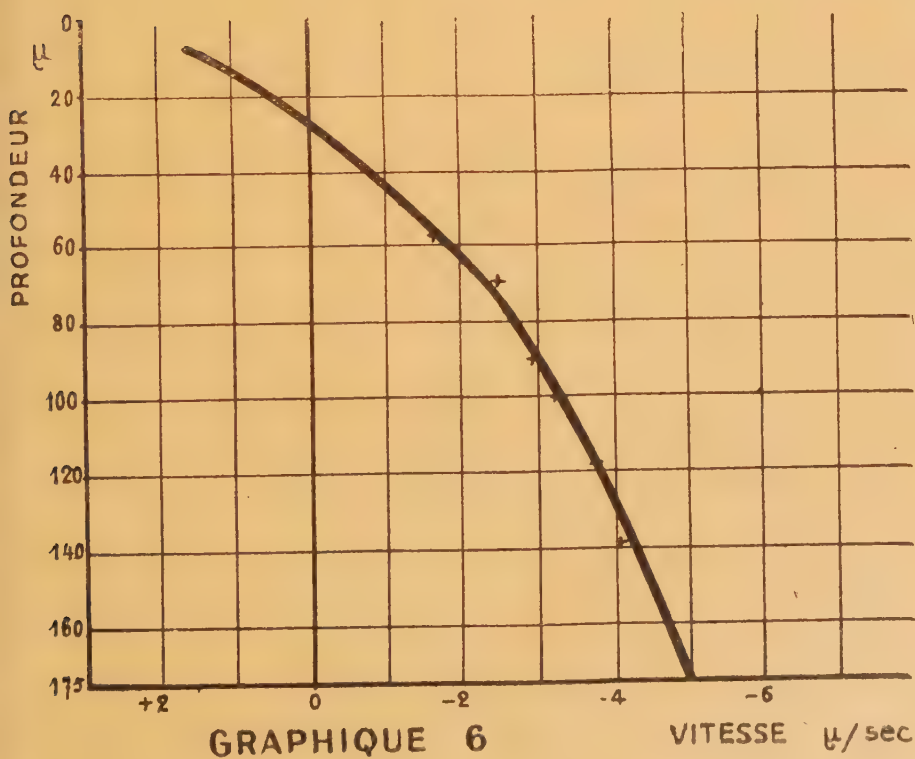
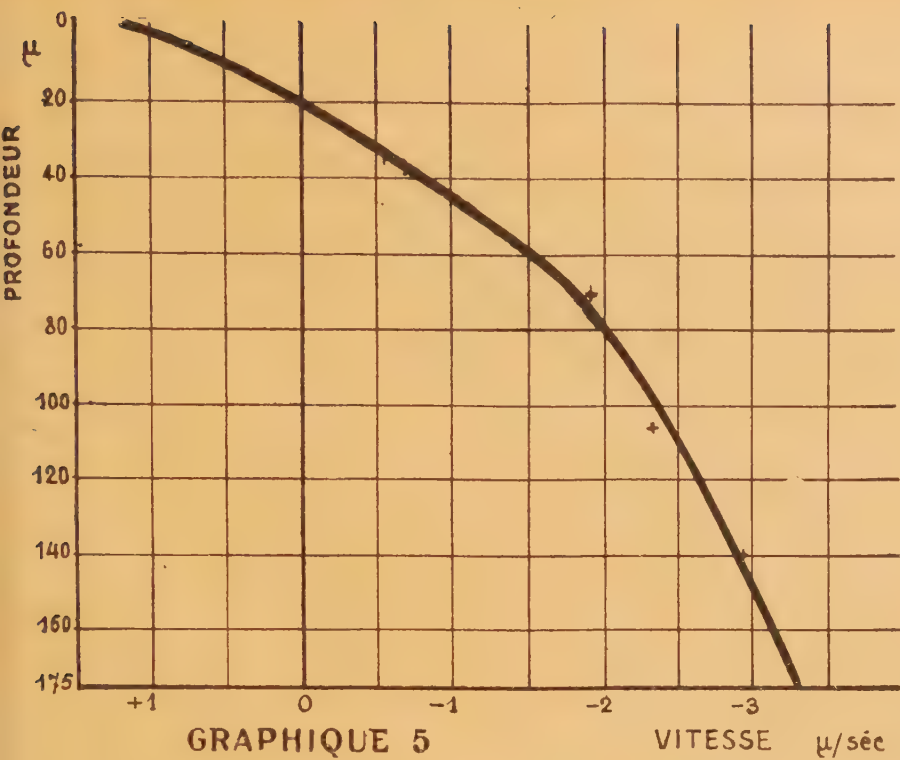
Profondeur en μ	Vitesse de déplacement en μ /sec.
58,5	— 1,73
70	— 2,48
87,5	— 2,94
100	— 3,3
117	— 3,8
140	— 4,1
175	— 5

Vitesses réelles : $V = 0,75 V_{\frac{1}{6}} + 0,25 V_{\frac{1}{2}} =$

$$= 0,75 \times 1,73 + 0,25 \times 5 = - 2,54.$$

$$V_{\frac{1}{5}} = - 2,48.$$

Résultats en parfait accord (erreur permise : 0,2 ; marge des résultats : 0,06). (Graphique 6.)



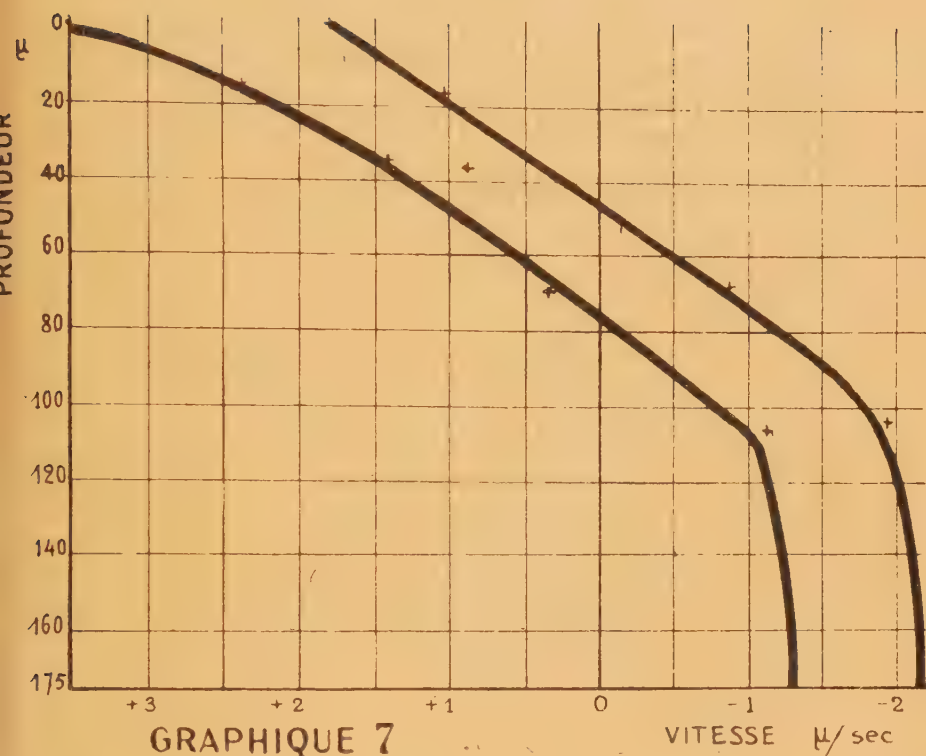
f) Dans les exemples précédents, nous n'avons envisagé que les microbes porteurs d'une charge négative. Considérons maintenant des germes positifs, ou, du moins, le genre « *Salmonella Porcine* », constitué de *germes positifs* et de *germes négatifs*. L'observation microscopique de l'électrophorèse montre nettement des microbes animés de deux vitesses différentes dont voici les valeurs :

Profondeur en μ	Vitesse en μ /sec. par volt /cm.
0	+ 1,7 + 3,5
17,5	+ 1 + 2,33
35	+ 0,87 + 1,4
70	— 0,87 + 0,32
105	— 1,94 — 1,16
175	— 2,18 — 1,3

(Voir Graphique 7.)

Résultats : $V_0 = -0,87$

$$V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}} = -0,89$$



$$V = V_0 + \frac{V_{\frac{1}{2}} - V_0}{1,565} = - 0,79$$

Erreur possible : 0,09 ; Marge des résultats : 0,10.

$$2^0 V_{\frac{1}{5}} = + 0,32$$

$$V = 0,333 V_0 + 0,667 V_{\frac{1}{2}} = + 0,30$$

$$V = V_0 + \frac{V_{\frac{1}{2}} - V_0}{1,565} = + 0,40$$

Erreur possible : 0,03 ; Marge des résultats : 0,10.

"On voit qu'ici les erreurs sont plus considérables : cela tient à ce que les mouvements simultanément inverses des germes se gênent mutuellement ; il faudrait établir une moyenne sur un grand nombre d'entre eux.

C. — Les **résultats précédents** montrent qu'il y a le plus souvent concordance entre les valeurs des vitesses observées à la

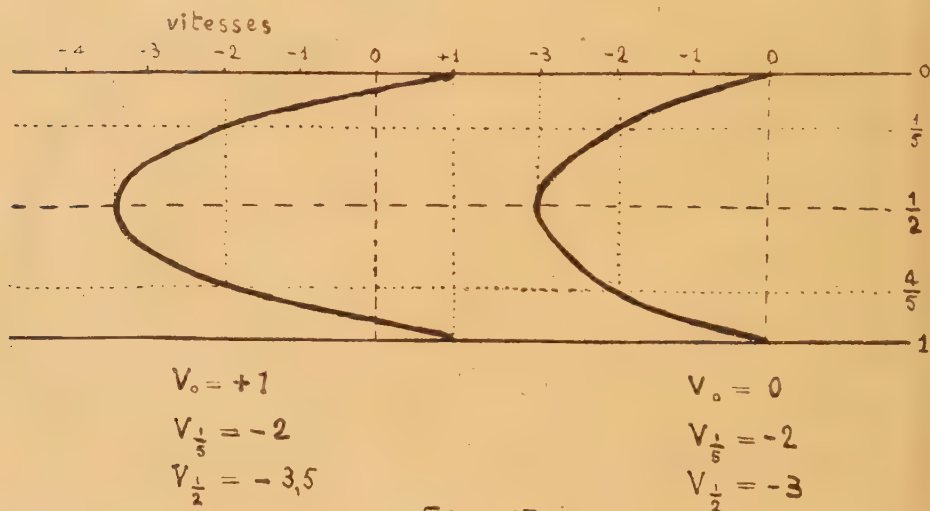


Fig. 17

profondeur du $1/5$ de l'épaisseur totale de la préparation et celles calculées par les formules proposées. En utilisant la cellule que nous avons décrite (350μ) avec une différence de potentiels de 30 volts, entre les électrodes d'or distantes de 15 mm., nous considérons comme vitesse vraie des particules, celle que nous observons à la distance de 70μ , de la face inférieure de la lamelle couvre-objet.

La simple inspection des graphiques 1 à 6 permet de distinguer quelques différences dans l'allure des courbes obtenues. Certaines sont plus allongées, plus étirées, d'autres sont au con-

traire, plus ramassées : pour les premières, la vitesse des particules centrales est bien supérieure à celle des particules voisines ; pour les secondes, à partir d'une certaine profondeur, les vitesses tendent vers la même valeur, et celle observée au centre n'est guère plus grande que celle des voisines. A quoi est due cette différence ? Remarquons que la vitesse vraie de la particule ne semble pas influencer la forme de la courbe : elle n'est en effet, qu'une moyenne particulière entre les vitesses du centre et de la surface : on peut obtenir la même valeur aussi bien avec deux vitesses extrêmes très différentes qu'avec deux extrêmes presque égales. La figure 17 montre bien ces deux possibilités. La cause doit donc être recherchée ailleurs. Peut-être réside-t-elle dans le fait que la vitesse de l'eau est différente, par suite d'une charge particulière des parois. En dépit des hypothèses que l'on pourrait admettre, sujettes du reste à discussion, bornons-nous, pour l'instant, à constater l'existence de ces deux allures de mouvement électrophorétique, quitte à en faire plus tard un caractère distinctif, de deux espèces microbiennes.

3^o Vitesses d'électrophorèse et champs électrostatiques ; mobilité des microbes.

A. — Le **calcul de la charge électrique** des microbes par les méthodes d'électrophorèse, suppose (p. 50) que la vitesse d'une particule chargée est proportionnelle au champ sous l'action duquel elle se déplace. Il en résulte la formule de HELMHOLTZ-LAMB (p. 50) :

$$v = \frac{KV}{4\pi} H \cdot \frac{l}{\eta d}$$

Si à la place du potentiel électrocinétique V , on fait intervenir la charge électrostatique e :

$$v = \frac{eH}{S} \cdot \frac{l}{\eta}$$

La charge e étant supposée une propriété constante pour un microbe déterminé dans des conditions bien établies, et les autres facteurs S l η étant constants, la vitesse v devrait être linéairement proportionnelle au champ H . En d'autres termes, le rapport $\frac{v}{H}$ que nous avons appelé la mobilité u ($=$ vitesse dans un champ unité), devrait être constant et caractéristique d'un microbe donné.

B. — **L'expérience** nous montre qu'il n'en est rien : la vitesse v n'est pas une fonction linéaire du champ H . Par suite, la mobilité u est, elle aussi, une fonction particulière de H .

Des suspensions microbiennes, préparées extemporanément

suivant la technique indiquée aux pages 60 et 101, sont placées dans la cuve à électrophorèse. Leur concentration est de 1 à 2 milliards de germes par cm^3 , et leur pH voisin de 6,7. La distance des électrodes d'or est de 15 mm. Le champ électrique que l'on y applique varie, à volonté, de 1 à 110 volts. Les mesures des vitesses s'effectuent comme nous l'avons indiqué aux pages 77 à 85, au niveau $1/5$ de la profondeur totale de la préparation.

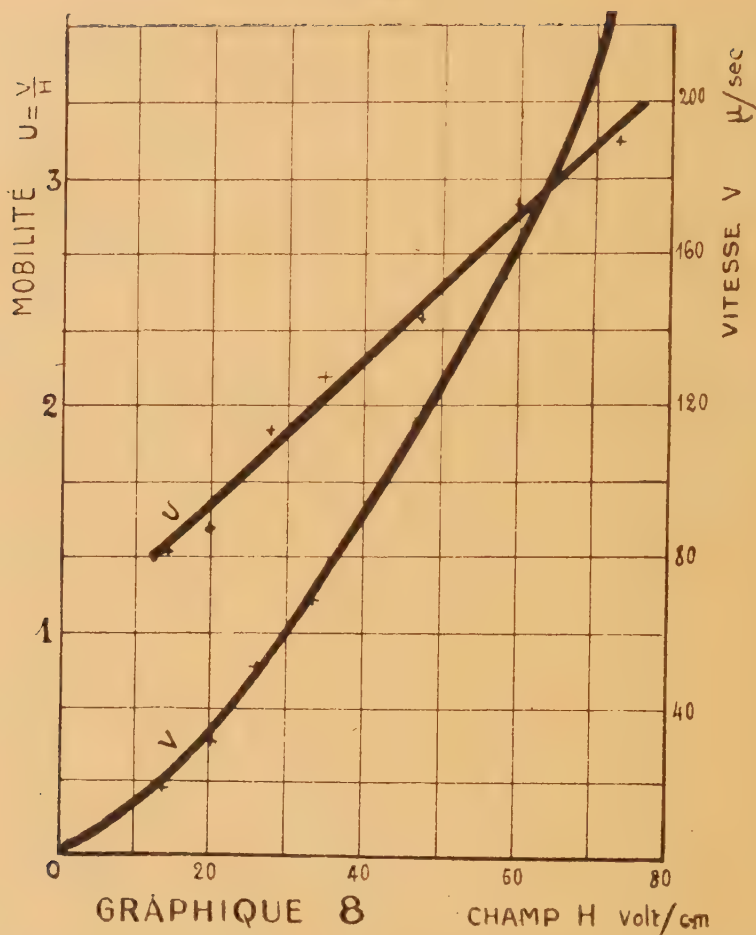
Dans ces conditions, les résultats que nous avons trouvés sur les valeurs des vitesses d'électrophorèse, dans des champs électrostatiques de différentes intensités, sont les suivants :

a) Suspension de *bacilles de Löffler* :

Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesses de déplacement v en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
13,3	18,4	1,38
20	29	1,45
26,6	50	1,87
33,3	70	2,1
46,6	116	2,4
60	175	2,9
73,3	233	3,2

Le graphique 8 traduit ce tableau de nombres.

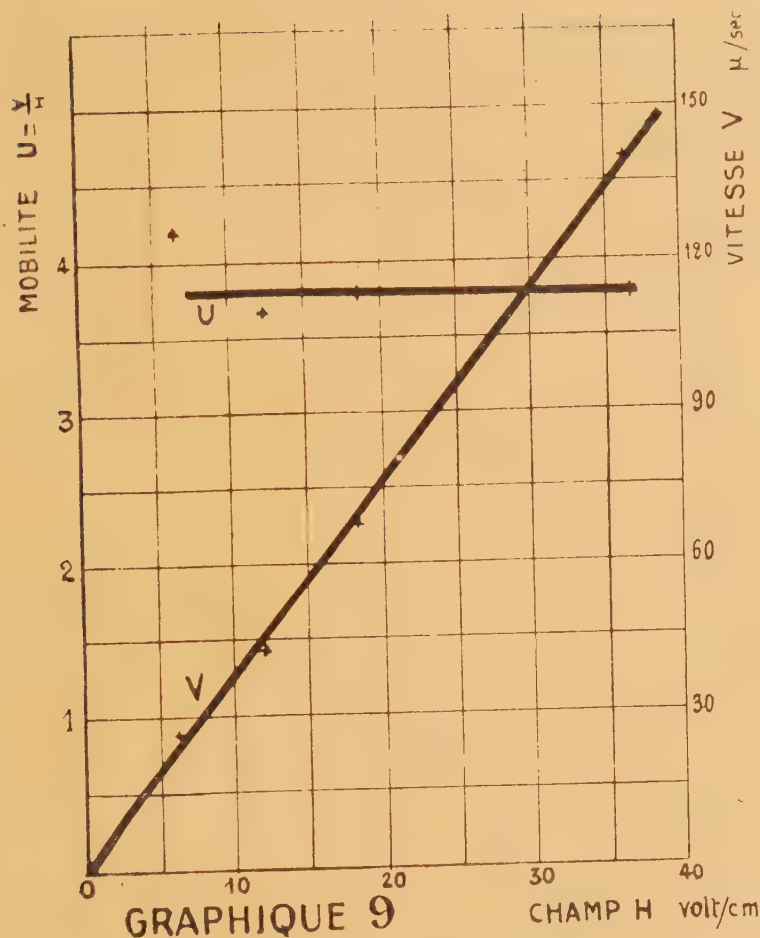
On voit que les écarts entre les diverses valeurs des mobilités sont supérieures aux erreurs possibles : ainsi, pour 1,87, en admettant une erreur maxima de 0,18, les valeurs limites 1,78 et 1,96 sont respectivement loin de 1,45 et 2,1, de sorte qu'on peut conclure que le rapport $u = \frac{v}{H}$ croît en même temps que l'intensité du champ, suivant une fonction sensiblement linéaire (voir graphique 8) ; par suite, la relation de la vitesse au champ serait de la forme : $v = aH^2 + bH$.



b) Suspension de *bactérium coli* (concentration : 4 milliards de germes par cm^3).

Champ électrostatique en volt/cm.	Vitesse de transport en $\mu/\text{seconde}$	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
6,6	28	4,2
12	43,7	3,64
18,3	70	3,82
36,6	140	3,82

(Voir Graphique 9.)



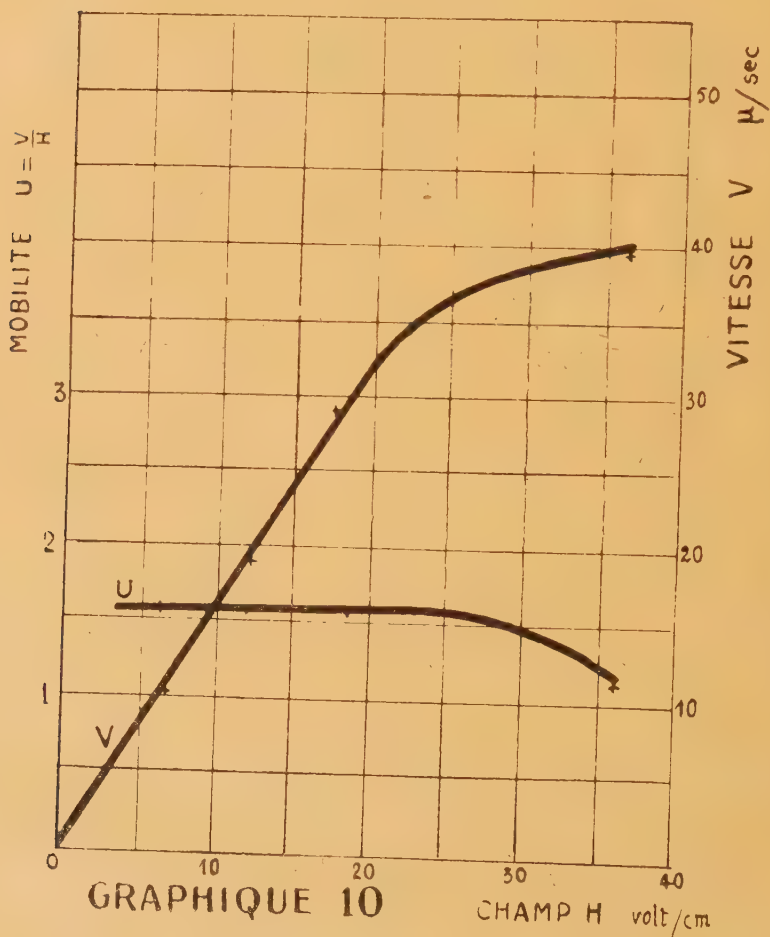
Ici, on peut considérer la mobilité comme constante ; les petites variations ci-dessus sont de l'ordre de grandeur des erreurs.

En résumé, dans l'exemple ci-dessus, la vitesse de déplacement est liée à l'intensité du champ par une équation de la forme $v = aH$, se traduisant par la droite du graphique 9.

Par suite : $u = \frac{v}{H} = a$: constante.

Faisons remarquer (ce qui a peut-être son importance) que la concentration de la suspension employée est de 4 milliards de germes par cm^3 , soit plus du double des émulsions utilisées ordinairement.

c) Suspensions de *bacilles d'Eberth* (concentration : 4 milliards de germes par cm^3).



Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesses de déplacement en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
6,6	10,4	1,58
12	19,2	1,60
18,3	29,2	1,59
36,6	40	1,1

(Voir Graphique 10.)

Ici encore, du moins jusqu'à 18 volt /cm., la mobilité est constante ; elle tend à diminuer, pour les champs supérieurs.

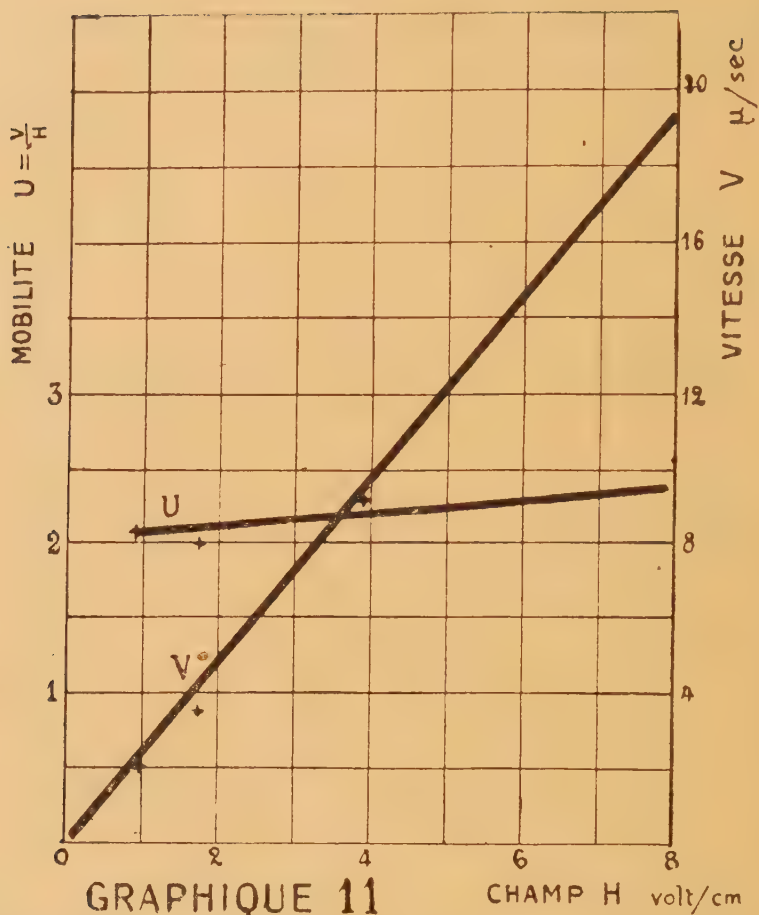
d) Suspension de *staphylocoque blanc* (concentration : environ 2 milliards par cm^3).

Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesse de déplacement en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
0,9	2	2,2
1,74	3,5	2
3,9	9,3	2,3
8,2	20	2,4

(Voir Graphique 11.)

Ici encore, la mobilité est sensiblement constante.

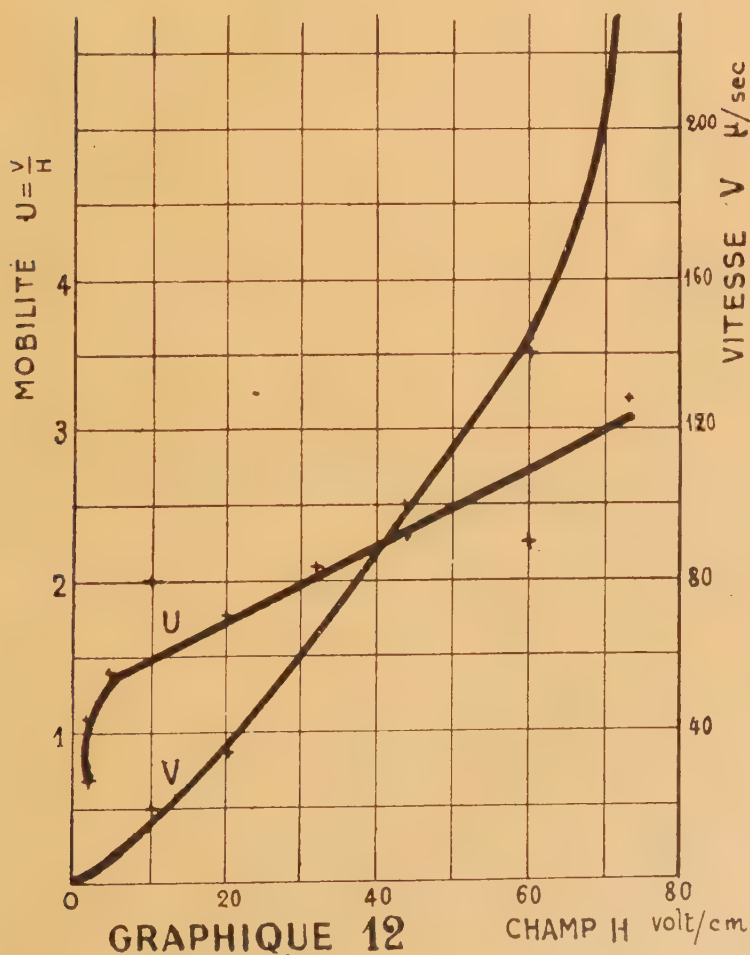
Dans la plupart des exemples précédents, nous n'avons envisagé que les champs de moyenne intensité, et il nous a paru que la courbe représentative des variations de v en fonction de H passait par l'origine, c'est-à-dire que dès que le champ a une valeur différente de zéro (si faible soit-elle), le microbe prend aussitôt une certaine vitesse. En d'autres termes, nous semblons admettre que les « molécules microbiennes », si elles existent, sont



dissociées dans l'eau, et que la différence de potentiel appliquée aux électrodes est utilisée uniquement pour leur déplacement. Si elles n'étaient pas dissociées, une partie de cette force électromotrice servirait d'abord à les dissocier, de sorte que le transport ne se ferait qu'au-dessus d'une certaine intensité du champ. C'est en vue de la détermination de ce « seuil » — s'il existe — que nous avons effectué les expériences suivantes.

e) Suspensions de staphylocoque doré.

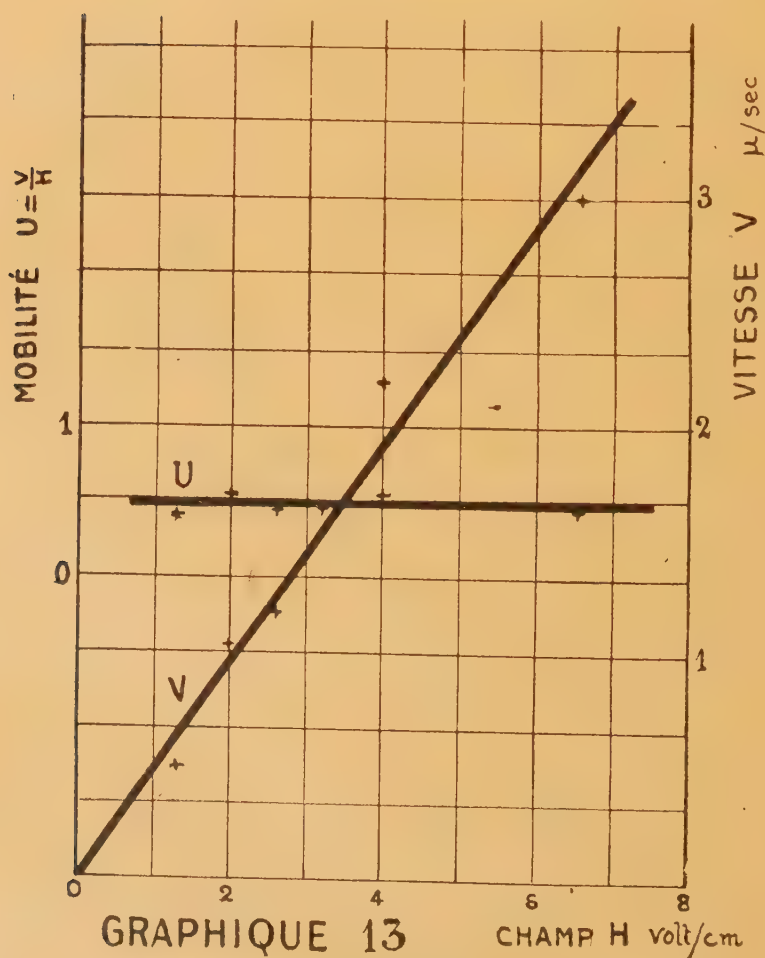
Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesse de déplacement v en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
0,66	0,71	1,07
1,66	1,45	0,86
2,33	1,66	0,71
3,33	2,33	0,70
3,73	4,00	1,08
6,16	8,75	1,42
10	20	2,
20	35	1,75
33,3	70	2,1
43,3	100	2,3
60	140	2,3
73,3	233	3,2



Ce graphique montre que la courbe des vitesses de déplacement passe par l'origine et a une forme parabolique. Cependant elle présente un angle marqué pour le champ 3,33.

f) Suspension de *bacilles de Löffler*.

Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesse de transport v en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
1,3	0,5	0,38
2	1,04	0,52
2,6	1,2	0,46
4	2,2	0,55
6,6	3	0,46



Ici, la mobilité est constante : $u = a$.

D'où : $v = aH$ (avec des champs d'intensité inférieure à 7 volts/cm.).

g) Suspension de *Pasteurella Porcine*.

Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesse de transport v en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
0,8	1,4	1,75
1	2,3	2,3
2,6	3,9	1,5
4	6,4	1,6
13,3	28	2,1
16,6	31,8	1,91
20	41,2	2,06
33,3	64	1,92
46,6	116	2,7
73,3	233	3,2

(Voir Graphiques 14 et 15.)

C. — Conclusions.

1. — Les courbes précédentes montrent que, dès qu'on crée le champ électrique, le microbe se met aussitôt en mouvement : si, donc, le germe une fois émulsionné dans l'eau, est sous forme d'une « molécule microbienne », celle-ci est dissociée et l'électrophorèse ne fait que traduire objectivement une simple électrolyse. Quelle est la destinée des petits ions neutralisant le microbe ? Ils se transportent au pôle positif (dans la plupart des cas, en effet, les germes sont négatifs) et l'on devra déceler une différence de pH entre les liquides anodique et cathodique (voir plus loin).

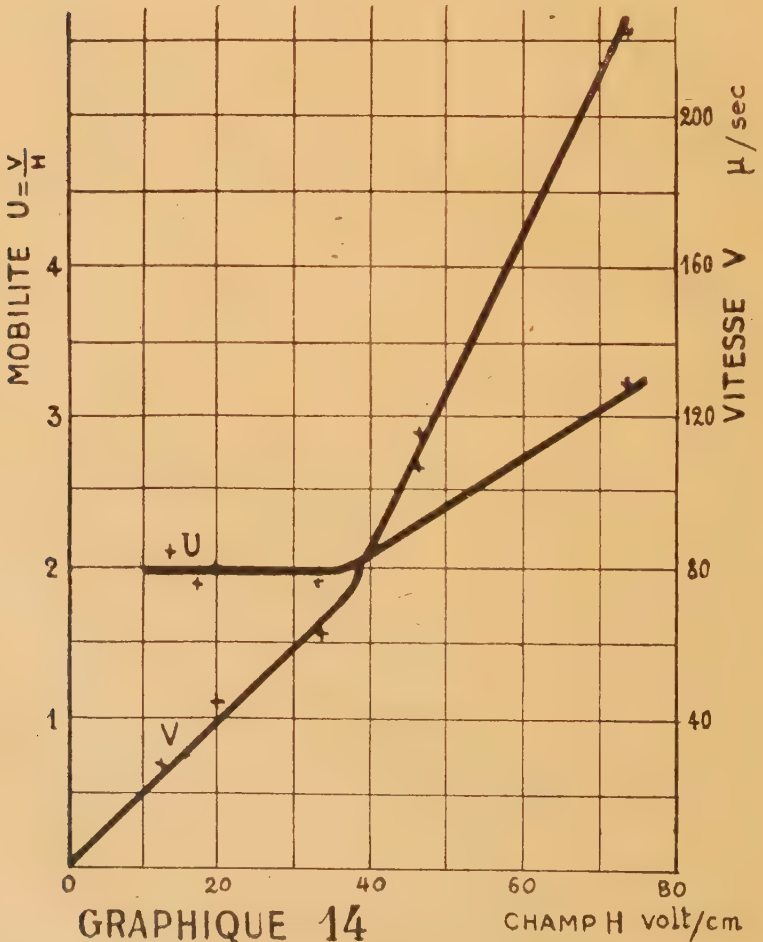
2. — Dans la plupart des exemples précédents, la vitesse des germes est directement proportionnelle au champ, lorsque l'intensité de ce dernier est inférieure à une dizaine de volts par centimètre. Nous dirons que, avec des champs de « faible intensité », la vitesse est fonction du champ, suivant la relation :

$$v = a H \quad (a \text{ étant une constante})$$

et par suite, la mobilité est constante :

$$u = \frac{v}{H} = a.$$

Cette constante pourrait caractériser chaque microbe.

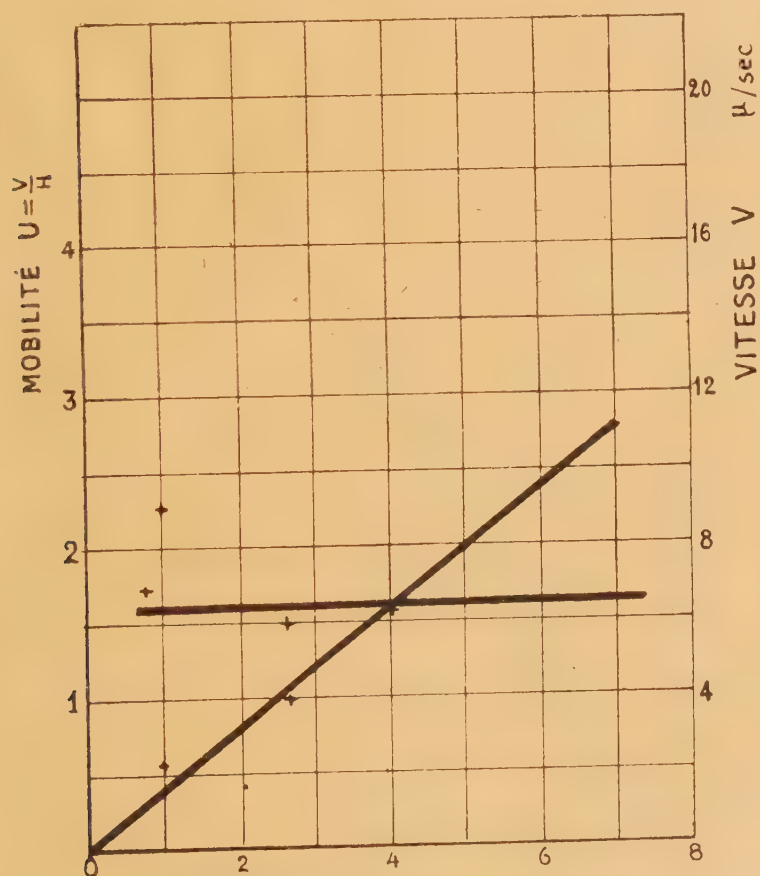


Lorsque l'intensité du champ croît, et prend des valeurs comprises entre environ 10 et 80 volts par centimètre — « champs de moyenne intensité » — la courbe représentative des variations de la vitesse en fonction du champ prend l'allure d'une parabole :

$$v = aH^2 + bH \quad (a \text{ et } b \text{ étant des constantes}) ;$$

par suite, la mobilité n'est plus constante, mais est une fonction

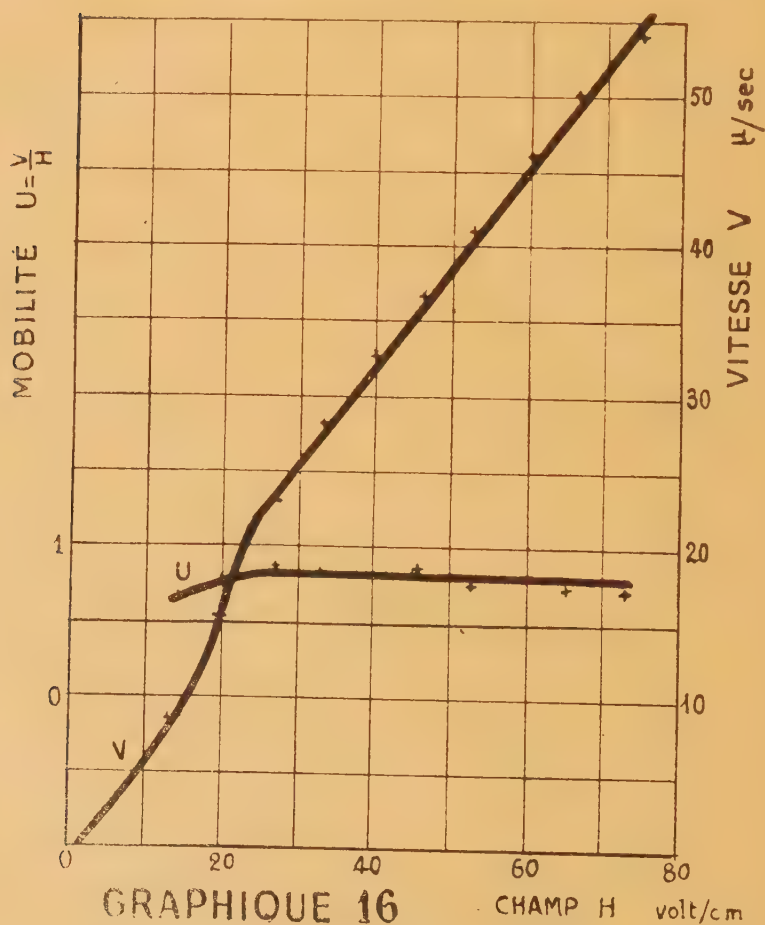
linéaire du champ : $u = \frac{v}{H} = aH + b$.



GRAPHIQUE 15 CHAMP H volt/cm

Elle ne peut donc plus servir à caractériser un germe donné. Quand on parlera de mobilité, il faudra alors préciser l'intensité du champ employé.

3. — La loi d'OHM peut s'appliquer à ces suspensions microbiennes. Cette possibilité nous sera d'un grand secours lors de l'étude de leur conductibilité (voir plus loin).



D. — Pourquoi la vitesse n'est-elle pas directement proportionnelle au champ, quelle que soit l'intensité de ce dernier ?

Deux sortes d'hypothèses peuvent être émises :

1. — Quand les champs diffèrent d'intensité, les vitesses des courants d'eau le long des lame et lamelle varient, et le niveau 1/5 de la profondeur totale n'est peut-être plus le niveau où s'annule le courant de l'eau ; de sorte que, s'il en est ainsi, la vitesse des particules, à ce niveau, ne sera plus leur vitesse vraie, mais sera augmentée de la vitesse de l'eau. En effet, ce qui se produira, c'est l'élargissement de la couche centrale de la préparation ; par suite, au niveau 1/5 l'eau ne sera plus stationnaire, mais entraînée vers l'anode, c'est-à-dire du même côté que les germes négatifs : d'où vitesse d'autant plus accrue que le champ est plus grand. — Cette hypothèse, à la rigueur valable pour les microbes négatifs, s'applique-t-elle aux germes positifs ? C'est ce que nous avons voulu éclaircir : l'expérimentation avec le *Salmonella Equin* nous a donné les résultats suivants :

Champ électrostatique H en volt par cm.	Vitesse de déplacement v en μ par seconde	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
13,3	+ 8,75	0,65
20	+ 15,5	0,77
26,6	+ 23	0,86
33,3	+ 28	0,83
40	+ 33	0,82
46,6	+ 37	0,79
53,3	+ 41	0,76
60	+ 46	0,76
66,6	+ 50	0,75
73,3	+ 54	0,73

(Voir Graphique 16.)

Le graphique 16 montre que chez les salmonella (microbes positifs), la vitesse est proportionnelle au champ, pour les champs compris entre 20 et 75 volts par centimètre, contrairement à ce qui se passe chez les microbes négatifs.

Notre hypothèse est donc plausible.

2. — Si la vitesse n'est pas une fonction linéaire du champ, la charge du microbe n'est pas une constante. En effet, nous avons vu que la force à laquelle est soumise la particule est : $F = e H$, que sa vitesse devient proportionnelle à F , $F = k v$. D'où : $v = \frac{eH}{k}$. Pour une charge e , constante, la vitesse v est proportionnelle au champ. Sinon, la charge e n'est pas constante ; elle est, elle-même, une fonction du champ H . Comment concevoir dès lors un microbe dont la charge électrique varie quand on change l'intensité du champ dans lequel il est placé ? On pourrait supposer qu'un champ suffisamment intense exerce sur le microbe une sorte d'électrolyse continue, telle que des ions de signe contraire soient constamment éliminés du germe, ce qui aurait pour résultat d'augmenter graduellement sa charge.

En effet, si $v = aH^2 + b H$, $\frac{v}{H} = a H + b = \frac{e}{k}$

D'où $e = a'H + b'$; la charge doit être une fonction linéaire du champ.

E. — Il nous reste à examiner ce qui se passe dans les **champs de « grande intensité »**, depuis 100 ou 200 volts par centimètre, jusqu'à quelques milliers de volts.

L'observation de suspensions de bacilles tels que : bacillus anthracis jeune, bacterium coli, bacille d'Eberth et para A, bacilles de Löffler..., nous a permis de constater les faits suivants :

1) Pour des champs de l'ordre de 100 volts par centimètre (obtenus avec le secteur), les bacilles se déplacent si rapidement

qu'il est impossible d'évaluer microscopiquement leur vitesse ; mais, chose remarquable, si, laissant le champ établi pendant 40 à 60 secondes consécutives, on observe au microscope le transport des germes, on s'aperçoit que ceux-ci tendent à s'orienter parallèlement à la direction de leur déplacement : en somme, pendant les premières secondes, les germes se déplacent dans la position même où le champ les a surpris, avec la même vitesse quelle que soit la surface suivant laquelle ils progressent (leur mouvement propre et le mouvement brownien n'étant plus perceptibles) ; puis, ils tendent à s'orienter de façon que leur grand axe soit parallèle aux lignes de force du champ (la résistance au déplacement est alors minime) ; enfin, ils deviennent tous parallèles entre-eux et à leur direction de déplacement.

2) Pour des champs de l'ordre de quelques milliers de volts par centimètre (champ d'une bobine d'induction dont le circuit primaire est alimenté par un accumulateur de 4 volts), l'orientation est instantanée. Les bacilles animés de mouvements désordonnés et quelconques, s'alignent brusquement en longues files dès qu'on ferme le circuit. Ils donnent l'impression d'un réseau de lignes parallèles, sombres et floues, sillonnant le cercle lumineux du microscope. A la rupture du circuit, les bacilles reparaissent individuellement orientés et reprennent aussitôt leurs mouvements désordonnés.

4° Vitesse des germes et concentration des suspensions.

A. — Les microbes constituant des suspensions de concentration différente, ont-ils tous la même vitesse, ou celle-ci est-elle fonction de la concentration ?

LASSEUR et FRIBOURG (1), après avoir étudié cette question, trouvent que la vitesse est légèrement supérieure lorsque la concentration est plus grande. Cependant, les différences sont si faibles qu'elles rendent les conclusions indécises.

Remarquons que l'étude de ce problème n'est pas inutile. Sa solution fournira en effet un élément important à la constitution physique du microbe en solution aqueuse.

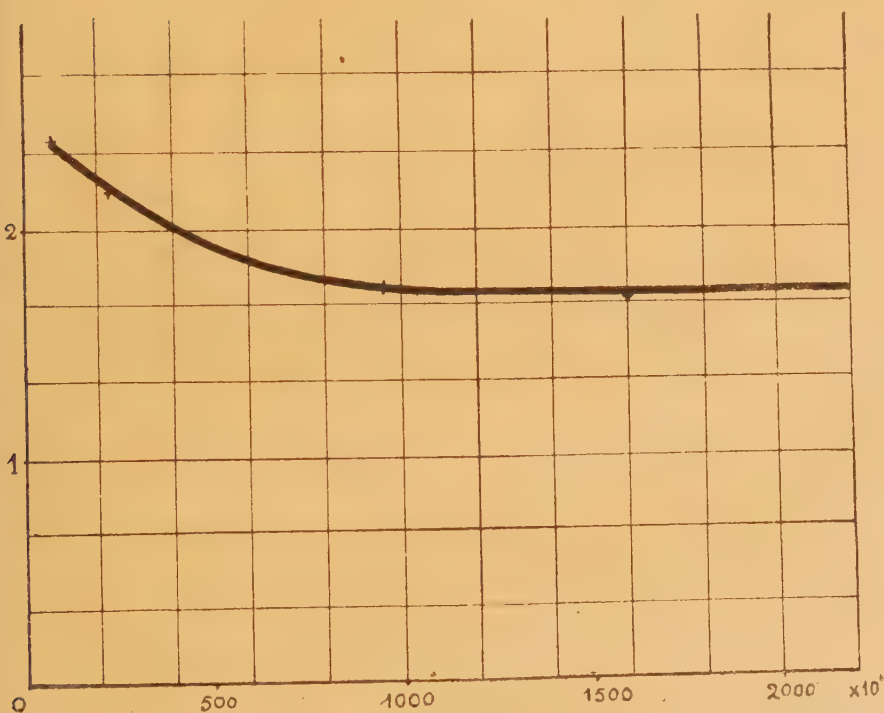
Pour un champ électrique constant, la vitesse des germes est proportionnelle à leur charge : $v = \frac{eH}{k}$. Si donc, à certaines concentrations, la vitesse varie, la charge varie elle aussi. Par suite, la charge serait fonction de la concentration de la suspension. Cette éventualité n'a rien de surprenant : dans de l'eau peu dissociée, les microbes, s'ils ne produisent pas d'ionisation par leur arrivée, adsorbent sur leur surface d'autant moins d'ions qu'ils sont plus nombreux à se les partager ; en outre, plus leur concentration est forte, moins les échanges avec le milieu extérieur seront importants ; mais peut-être les germes produisent-ils par leur émulsion dans l'eau, une dissociation supplémentaire de celle-ci et le pH change-t-il ; quoiqu'il en soit, de ces hypothèses discutables, nous avons voulu nous rendre compte des faits.

(1) LASSEUR et FRIBOURG [92], Tr. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1928-1929-1930.

B. — Les préparations des suspensions et les mesures de vitesse ont été indiquées antérieurement. Nos **expérimentations** portant sur des cocci et des bacilles, nous ont donné les résultats suivants (dans un champ électrique de 20 volts par cm., avec une intensité ne dépassant jamais 1 milliampère, et pour un pH voisin de 6,7-6,8).

a) Suspensions de *staphylocoque doré* :

Concentration Nombre de germes par cm ³	Vitesse en μ par seconde, rapportée à un champ de 1 volt par cm.
72×10^6	2,4
240×10^6	2,18
960×10^6	1,73
1600×10^6	1,7
2×10^9	1,66



GRAPHIQUE 17

CONCENTRATION N/cm^3

La courbe montre que la vitesse décroît quand la concentration augmente. Elle tend vers une limite inférieure à partir de la concentration de 1 milliard environ par cm^3 .

Autres suspensions de staphylocoque doré :

Concentration Nombre de germes par cm^3	Vitesse en $\mu/\text{sec.}$ rapportée à un champ de 1 volt par cm
250×10^6	2
1100×10^6	2,3
1500×10^6	2,5
2200×10^6	2,86
3000×10^6	2,76
4500×10^6	1,64

(Voir Graphique 17 bis.)

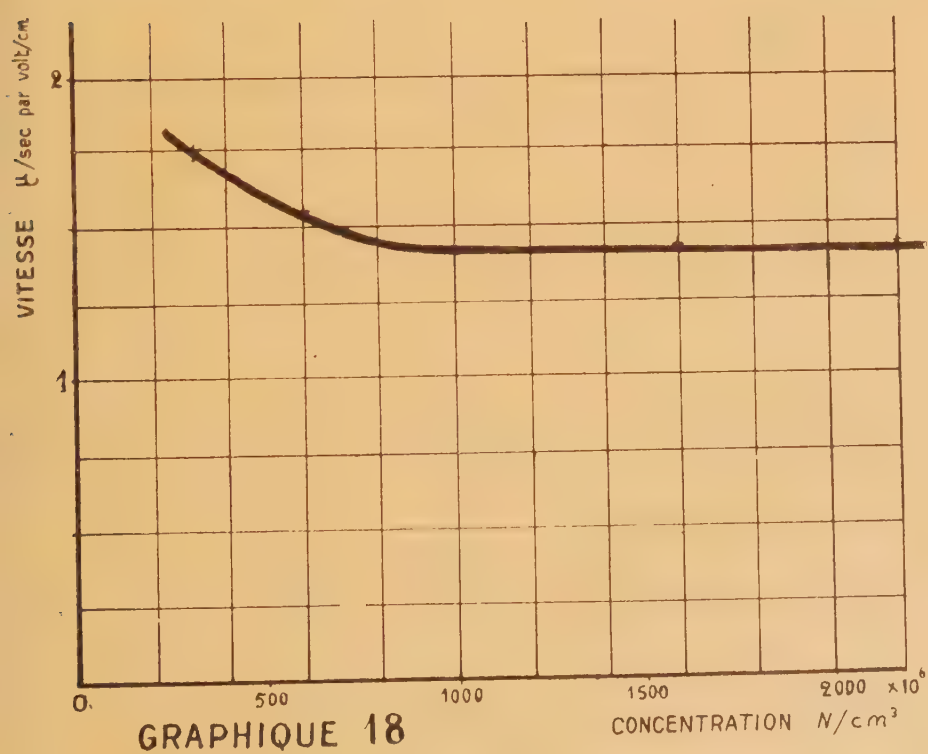
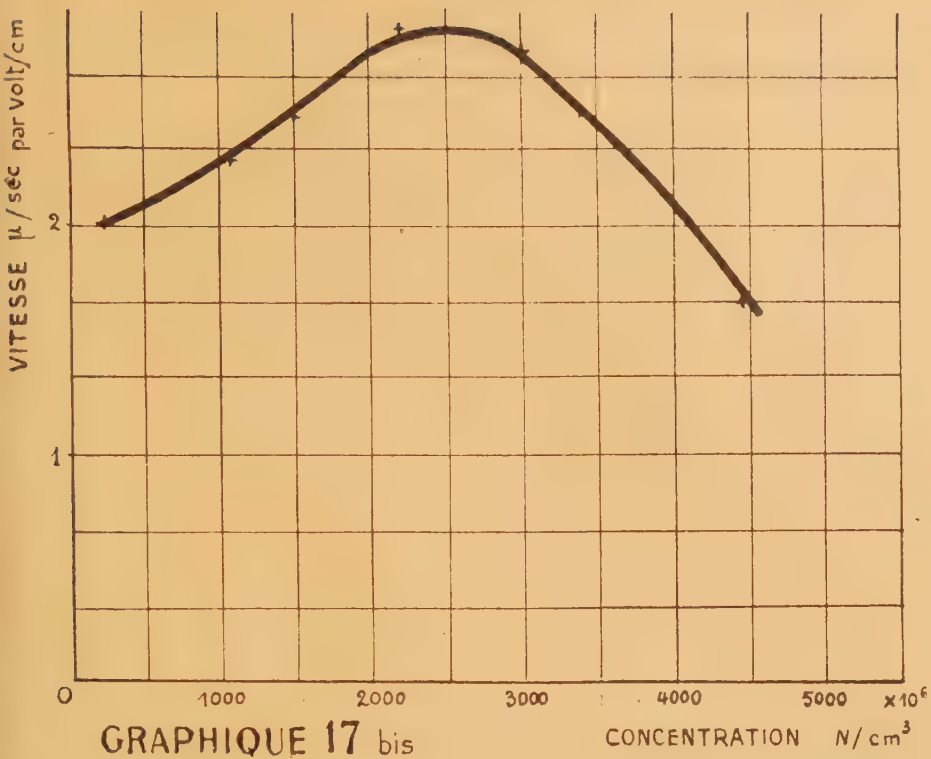
La vitesse présente un maximum pour une concentration voisine de 2 milliards, puis décroît.

b) Suspension de *Brucella melitensis* (souche humaine) :

Concentration Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ par seconde rapportée à un champ de 1 volt par cm.
320×10^6	1,74
600×10^6	1,55
$1,6 \times 10^9$	1,41
$2,2 \times 10^9$	1,4

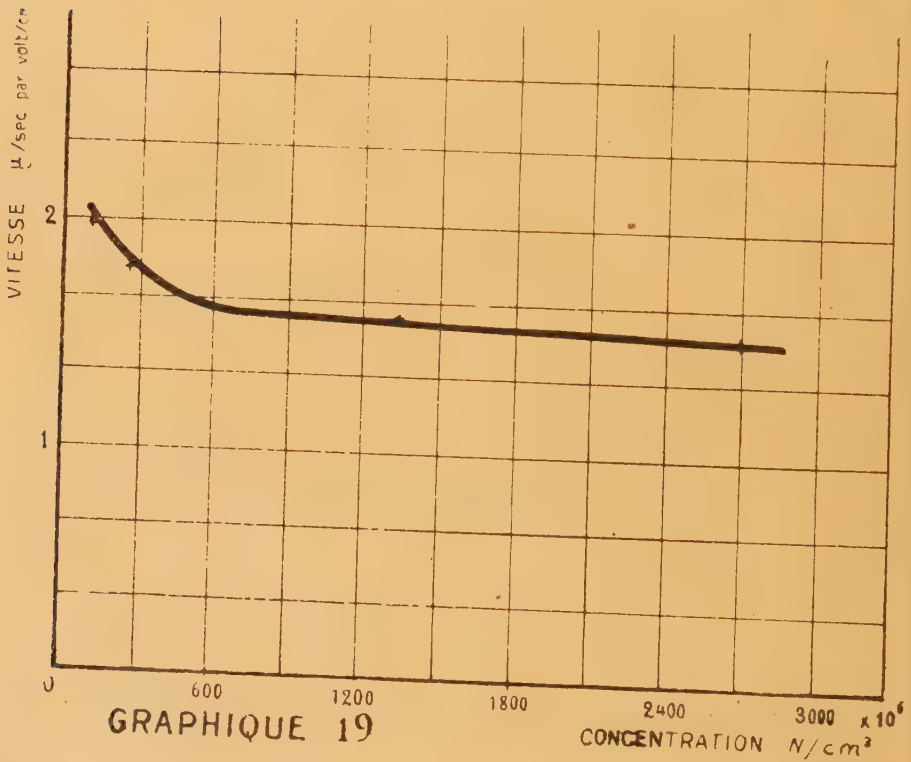
(Voir Graphique 18.)

Ici, la vitesse diminue quand la concentration augmente et tend vers une limite, au-dessus de la concentration 1 milliard par cm^3 .



c). Suspension de *Brucella abortus* (souche humaine) :

Concentration Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ par seconde rapportée à un champ de 1 volt par cm.
135×10^6	2
270×10^6	1,8
1350×10^6	1,6
2700×10^6	1,5



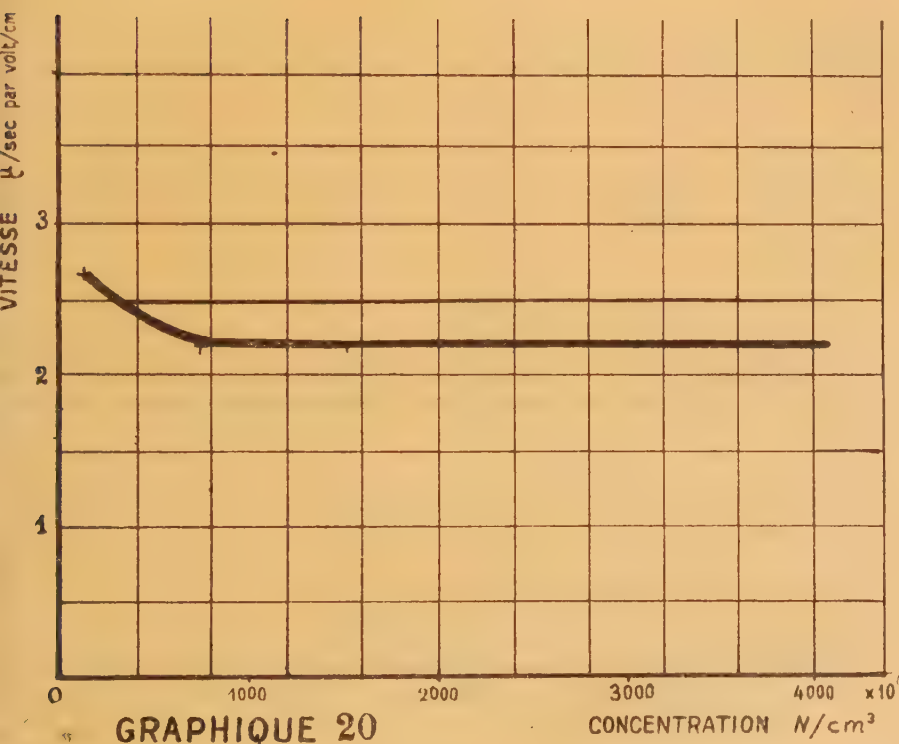
La courbe présente la même allure que les précédentes.

d) Suspension de *Brucella abortus* (souche bovine) :

Concentration
Nombre de germes
par cm^3

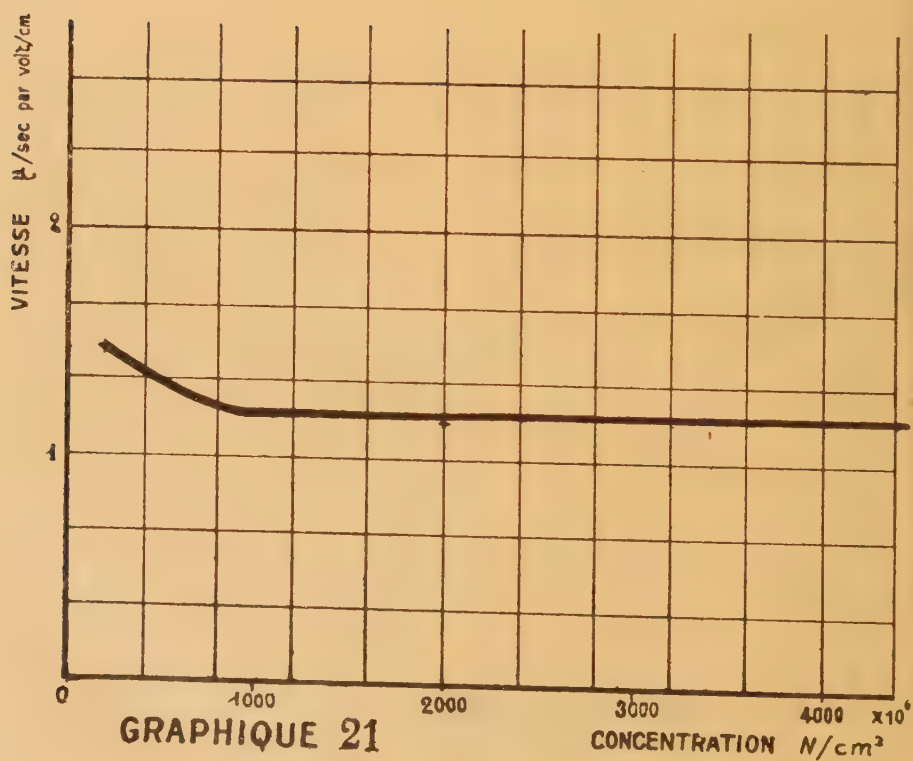
Vitesse en μ par seconde
rapportée à un champ
de 1 volt par cm.

148×10^6	2,66
740×10^6	2,23
1500×10^6	2,20
3700×10^6	2,16



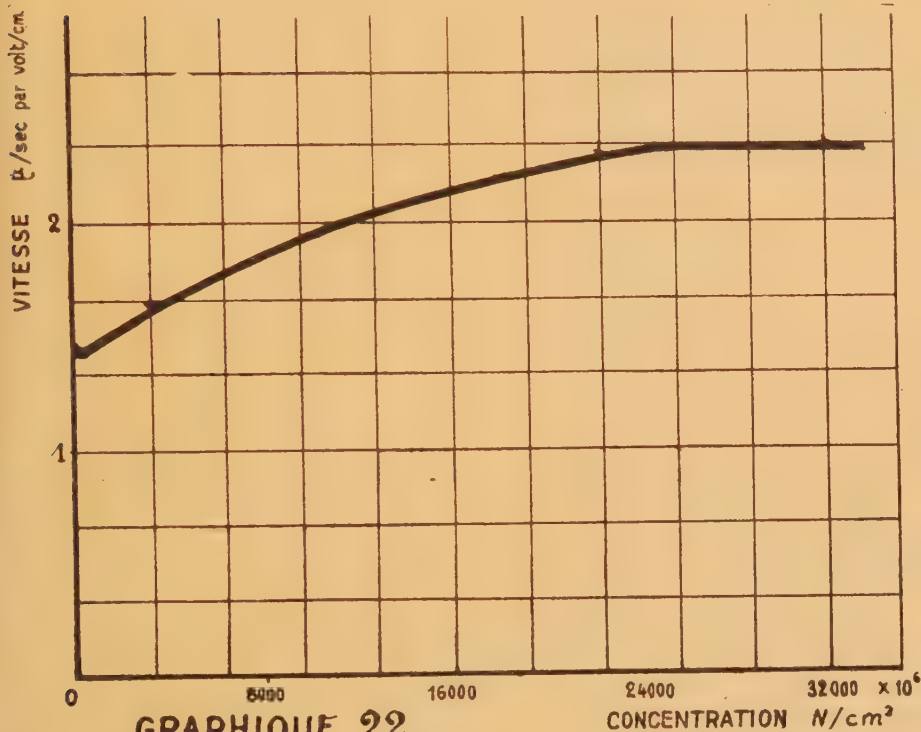
e) Suspension de *bactérium coli* (D. P.) :

Concentration Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ par seconde rapportée à un champ de 1 volt par cm.
200×10^6	1,45
400×10^6	1,35
2×10^9	1,16
4×10^9	1,16



f) Suspension de *bacilles dysentériques de Shiga* (souche de Metz) :

Concentration Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ par seconde, rapportée à un champ de 1 volt par cm.
320×10^6	1,5
3200×10^6	1,66
32×10^9	2,33



GRAPHIQUE 22

Cette courbe montre, contrairement aux précédentes, que la vitesse croît avec la concentration.

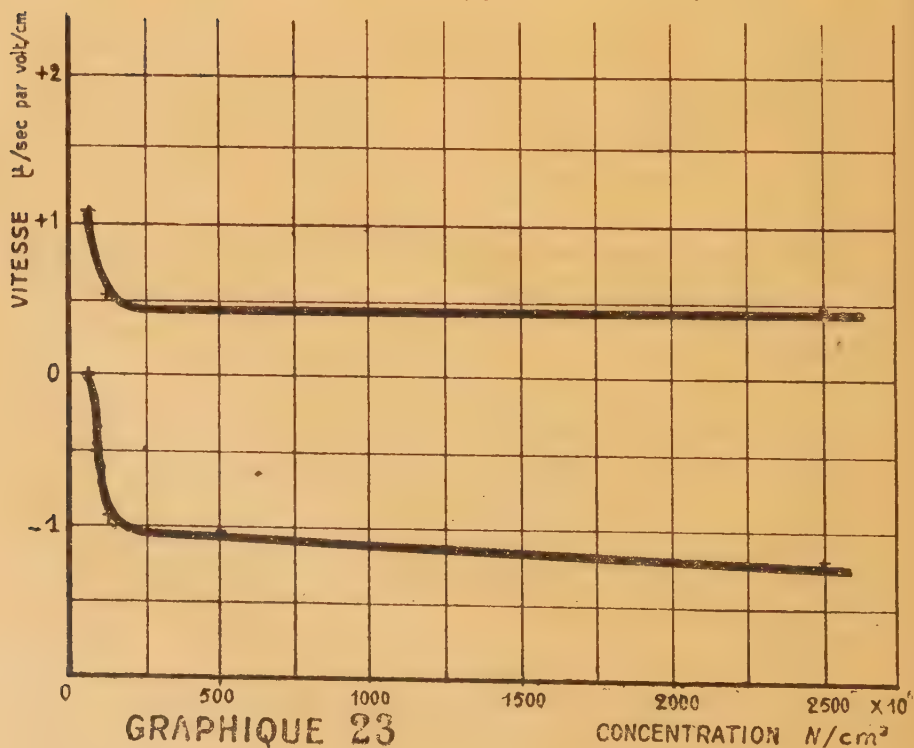
Mais remarquons que les bacilles dysentériques sont considérés comme positifs par de nombreux auteurs ; ici, pourtant, nous les avons trouvés négatifs. En tous cas, nous constatons dans le cas présent, une anomalie.

Envisageons maintenant le comportement des microbes positifs.

g) Suspension de *paratyphique B* :

Dans nos expériences d'électrophorèse, nous avons constaté que le para B se dissocie en deux germes : l'un chargé positivement, l'autre négativement. C'est ce que nous voulons indiquer en écrivant deux chiffres, précédés l'un du signe +, l'autre du signe —, en regard de chaque concentration :

Concentration	Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ/sec par volt/cm.
62×10^6		0
		+ 1,14
124×10^6		— 0,91
		+ 0,58
500×10^6		— 1,06
		+ 0,47
2500×10^6		— 1,20
		+ 0,46



On retombe dans le cas général : les vitesses diminuent quand la concentration augmente, pour les germes chargés positivement. Les négatifs eux aussi, voient dans les mêmes conditions, leurs vitesses diminuer, mais en valeur algébrique, c'est-à-dire que la valeur absolue de leur vitesse augmente comme le dysentérique de Shiga (d'où une petite analogie).

h) Considérons d'autres germes positifs : le groupe des *Salmonella*, suspensions de *Salmonella Porcine* :

Concentration : Nombre de germes par cm ³	Vitesse en μ par seconde rapportée à un champ de 1 volt par cm.
500×10^6	0 + 1,4
1250×10^6	— 0,58 + 0,58
5×10^9	— 0,87 + 0,32
7×10^9	— 1,16 0

(Voir Graphique 24.)

Résultats comparables à ceux du paratyphique B : quand la concentration augmente, la vitesse des germes positifs diminue ; celle des germes négatifs augmente.

f) Suspensions de *Salmonella Equine* :

Concentration : Nombre de germes par cm^3	Vitesse en μ par seconde rapportée à un champ de de 1 volt par cm.
240×10^6	+ 0,1 + 2
960×10^6	0 + 1,8
1600×10^6	— 0,3 + 1,6
3500×10^6	— 0,9 + 1,3
4800×10^6	— 0,9 + 1
7×10^9	— 0,9 + 1

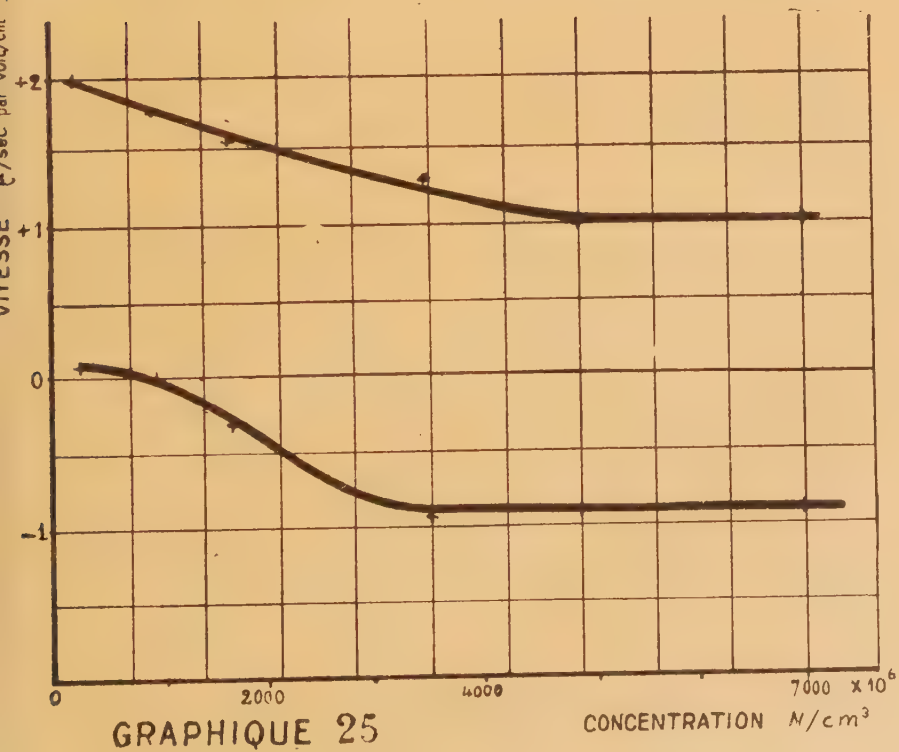
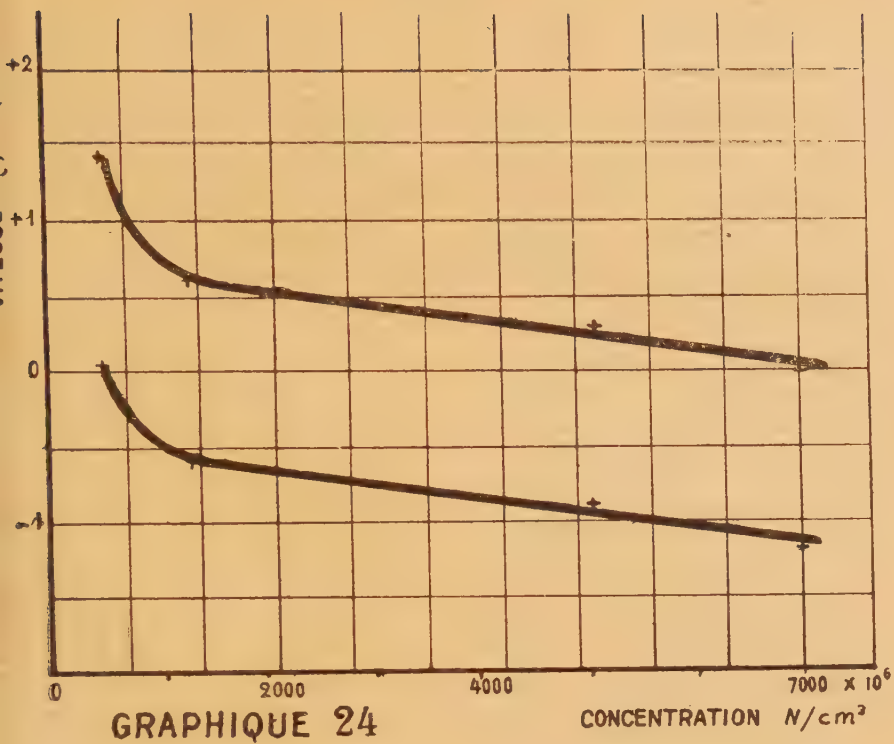
(Voir Graphique 25.)

C. — Conclusions.

D'après nos nombreuses expériences dont nous venons de relater les exemples les plus démonstratifs, et dans les conditions où nous avons opéré :

1) La vitesse électrophorétique d'un microbe en émulsion aqueuse varie avec la concentration de cette émulsion.

2) Les germes porteurs d'une charge négative, voient, d'une façon générale, leur vitesse diminuer rapidement jusqu'à une concentration voisine de 1 milliard par cm^3 , au-dessus de laquelle elle tend vers une valeur constante, caractéristique pour un germe donné.



3) Les germes considérés comme chargés positivement et constitués en réalité (d'après l'examen électrophorétique) de microbes négatifs et de microbes positifs, voient également leurs vitesses diminuer, en valeur algébrique, lorsque la concentration s'élève jusque vers 500 millions à 2 milliards par cm^3 : en d'autres termes, leur vitesse positive diminue (allant par exemple de $+2$ à $+0,5$ et s'y stabilisant pour les fortes concentrations), et leur vitesse négative augmente (par exemple de 0 à $-1,5$ et s'y stabilisant pour les grandes concentrations).

4) Il y a cependant quelques exceptions à ces deux règles (bacilles dysentériques, certains cocci...).

5) Quoiqu'il en soit, la vitesse d'électrophorèse est fonction de la concentration :

a) Cette dépendance peut être le fait de la viscosité du milieu, d'autant plus accrue qu'il y a plus de germes par cm^3 ; nous avons voulu vérifier si cette augmentation de viscosité peut être la cause du ralentissement observé. L'étude des germes positifs vient de nous montrer qu'il n'en est rien, puisque lorsque la concentration augmente, la vitesse des éléments négatifs de ces germes croît, elle aussi. Il n'y a donc aucun rapport du point de vue mécanique, entre la vitesse des germes et leur concentration.

b) La vitesse d'électrophorèse étant proportionnelle à la charge d'une particule, celle-ci devient donc une fonction de la concentration. Tout se passe comme si le microbe adsorbait plus ou moins d'ions H^+ ou OH^- , non seulement suivant sa constitution interne, mais aussi (et accessoirement) suivant les possibilités « matérielles » d'ionisation du liquide émulsionnant, possibilités variant, naturellement, avec le nombre de germes. L'analogie suivante fait image : supposons une voiture automobile d'une certaine puissance ; sur route elle peut atteindre une vitesse plus ou moins élevée ; lorsqu'elle traverse une agglomération, sa vitesse se réduit d'autant plus que la route est plus

encombrée par d'autres véhicules ; arrivée dans une ville importante où la « concentration en voitures » est grande, sa vitesse devient fonction du nombre des autres véhicules circulant (en supposant toutes les voitures de même puissance et en annulant tous les arrêtés municipaux réglementant la vitesse des automobiles !).

Ainsi, la charge serait fonction de la concentration ; nous tenterons, à la fin de ces chapitres, de donner une explication rationnelle de ces phénomènes, en montrant le comportement du microbe dans sa suspension. Pour l'instant, il nous reste à envisager une hypothèse : cette variation de la charge, ne viendrait-elle pas de ce que des suspensions de concentrations différentes auraient des pH différents ? Et nous savons, en effet, que la vitesse de transport diminue quand l'acidité augmente. Nous allons donc étudier dans le chapitre suivant, le pH des émulsions microbiennes et en particulier nous allons chercher si, pour les mêmes germes, le pH varie en fonction de la concentration de ses suspensions.

5^o PH des suspensions microbiennes ; pH et concentration des suspensions.

A. — E.-F. HIRSCH (cité par LASSEUR) admet que les bactéries existent dans l'eau salée sous deux formes : une partie reste à l'état de suspension, l'autre partie dissoute est à l'état de solution vraie, s'ionise et produit une réaction alcaline. En ajoutant des bactéries à de l'eau salée, le pH passerait de 7 à 8,25. LASSEUR, avec le bacille pyocyaneus (pH : 6,65), n'observe pas d'alcalinisation nette. Laissons de côté, pour le moment, les diverses théories qu'il est possible d'envisager, et contentons-nous d'observer les faits.

B. — Les suspensions sont préparées de la façon habituelle : culture sur gélose de 24 heures raclée, mise en suspension en eau distillée stérile et centrifugée 2 ou 3 fois pendant 20 minutes : le culot, finalement obtenu, est conservé sans agiter pendant que l'on prépare les dilutions progressives. On mesure d'abord le pH de l'eau distillée ; puis on dilue le culot dans quelques gouttes de cette eau et on porte un nombre déterminé de gouttes de la suspension-mère ainsi obtenue dans les tubes à dilution croissante. Le pH est mesuré par la méthode électrométrique (électrode rotative de LECOMTE DU NOUY) et la concentration de l'émulsion est déterminée par numération microscopique des germes dans une cellule genre Thomas, sur fond noir.

Nous avons pensé qu'il serait indispensable, pour porter une conclusion, d'expérimenter non seulement sur les microbes négatifs, mais aussi sur les germes positifs, ce qui, à notre connaissance, n'a pas fait l'objet de recherches systématiques.

a) Suspension de *staphylocoque doré* préparée avec des eaux distillées de pH différent :

Concentration des suspensions :

Nombre de germes par cm ³	pH	
Eau distillée	5	5,7 6,5
250 × 10 ⁶	5,2	
860 × 10 ⁶		6,2
1700 × 10 ⁶		6
4500 × 10 ⁶	5,7	
7500 × 10 ⁶		7,85

Ce tableau montre que l'introduction de germes, tels que des cocci, en proportion quelconque dans de l'eau distillée, amène une alcalinisation du milieu. D'une façon générale et approximative, la suspension est d'autant plus alcaline qu'elle est plus concentrée.

b) Suspensions de *streptocoque gourmeux* :

Concentration :	
Nombre de germes par cm ³	pH
0	6,8
30 × 10 ⁶	7,1
60 × 10 ⁶	7,1
600 × 10 ⁶	7,2

Ici, encore alcalinisation.

c) Suspensions de *Salmonella Equin* :

Concentration :	
Nombre de germes par cm ³	pH
0	6,6
100 × 10 ⁶	6,6
200 × 10 ⁶	6,5
330 × 10 ⁶	6,8
10 ⁹	6,7
2,5 × 10 ⁹	6,8

On voit d'autre part que le liquide cathodique contient encore des germes, parce que le temps de passage du courant n'est pas assez long pour permettre un éloignement suffisant des germes : en admettant, en effet, une vitesse de $10 \mu/\text{sec.}$, ils n'auront parcouru en 30 minutes que 18 mm., distance trop faible pour que le mouvement consécutif en pipetage du liquide n'entraîne pas de mélange de la zone anodique ou cathodique avec les zones centrales. Le liquide anodique est plus acide que le liquide cathodique, ce qui semblerait montrer qu'il y a accumulation d'ions H^+ à l'anode et d'ions OH^- à la cathode (résultats concordant avec ceux de Mlle CHOUCROUN) (1).

C. — Que **conclure** de ces quelques résultats, qui se retrouvent superposables à ceux obtenus avec un grand nombre d'autres germes étudiés ?

En simplifiant à l'extrême, nous pouvons schématiquement envisager trois hypothèses :

1^o Le microbe possède une charge individuelle, qui fait partie intégrante de sa masse, et qui est le résultat de sa constitution chimique, de son architecture moléculaire.

Placé dans un milieu plus ou moins ionisable, le germe adsorbe des ions de signe opposé à sa charge. Considérons (cas général) un germe négatif M^- . Introduit dans l'eau, il absorbe les ions H^+ dissociés : $\text{M}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{MH}$ et forme en quelque sorte une molécule neutre dont nous pouvons supposer le coefficient de dissociation égal à l'unité (toutes les molécules sont dissociées). Il reste par conséquent un nombre égal d'ions OH^- , qui confèrent au milieu son alcalinité.

Remarquons qu'un microbe positif M^+ donnerait :



(1) Mlle CHOUCROUN : [26], *C. R. Ac. Sciences*, CI,XXXXVI, 1933, p. 777 ; [27], *id.*, CXCIX, 1934, p. 36.

et il resterait H^+ , ce qui rendrait acide la solution (comme nous l'avons vu à l'exemple c).

2° Le microbe est neutre par lui-même ; sa constitution chimique et les propriétés physiques qui en découlent, font que, plongé dans une solution d'électrolytes dissociés, il adsorbe des ions négatifs : il acquiert donc une charge négative $(M. OH)^-$. Celle-ci appelle autour d'elle, un nombre égal d'ions positifs (pour former la couche double), de telle sorte que la neutralité de la solution serait conservée. Cette conception est contraire à l'expérience.

3° Le microbe est neutre, c'est une molécule complexe MX qui se dissocie dans l'eau et réagit avec elle :



Or, $M H$ est peu dissocié (à cause du gros ion M) et correspond à un acide faible ; $X OH$ très dissocié donne : X^+ et OH^- , d'où alcalinité. Donc, introduire un complexe $M X$ dans l'eau, revient à y ajouter l'ion M^- . Mais déjà l'équilibre

$$\frac{[M^-] \times [H^+]}{[MH]} = k', \text{ une augmentation de } [M^-] \text{ provoque la}$$

formation de $[M H]$ et par suite une quantité correspondante de $[H^+]$ se formera à partir de l'eau. D'où, dissociation nouvelle de l'eau et alcalinisation par suite des $[O H^-]$ formés non utilisés. Nous reviendrons sur ces diverses hypothèses que nous compléterons, à la fin du chapitre suivant.

6° Conductibilité électrique des suspensions microbiennes.

A. — Nous avons vu (p. 62) que la conductibilité d'une suspension fraîchement préparée pouvait s'exprimer par
 $\sigma = N(u + u')e$, N étant le nombre de germes par cm^3 ,
 u leur mobilité $\left(\frac{\text{vitesse}}{\text{champ}}\right)$, u' la mobilité de l'ion H^+ ou métallique qui neutralise le germe, et e la charge de ce dernier.

Remarquons tout de suite, tout ce que cette relation simpliste contient d'incertain : elle suppose que u est une constante pour un microbe déterminé, alors que des expériences précédentes nous ont montré que u est une fonction du champ utilisé ; elle suppose en outre que les ions formant la deuxième portion de la couche double sont des ions hydrogène, ce qui n'est pas démontré ; enfin, elle fait abstraction de la conductibilité de l'eau et de son comportement ionique après l'émulsion. Ce n'est donc qu'une formule approximative, qui nous a servi de point de départ pour les expériences que nous relatons plus loin.

B. — Quelques auteurs ont étudié la conductibilité électrique des suspensions microbiennes. LASSEUR et NOBLAT ⁽¹⁾ constatent qu'en partant d'une émulsion aqueuse, provenant du raclage d'une culture sur gélose, la conductibilité diminue avec les lavages successifs ; les électrolytes proviendraient du milieu de culture, du verre, et surtout des corps microbiens par diffusion dans le

(1) LASSEUR et NOBLAT [94], Tr. Lab. Micro. Fac. Pharm. Nancy, 1928.

liquide dispersif, l'emploi d'une solution saccharosée isotonique ne diminuerait pas sensiblement la perte en électrolytes des plastides vivantes. Mais certaines solutions renfermant plusieurs sels modifieraient l'allure du flux allant du germe au liquide dispersif.

SHEARER pour le coli et le méningocoque, V. HENRI et CALUGAREANU pour les globules rouges, BÉGUET pour le brucella melitensis, SIERAKOWSKI et LECZYCKA, etc., montrent, en somme, que la conductibilité est due surtout aux électrolytes provenant des milieux de culture, ou diffusés par les microbes eux-mêmes.

Dans le paragraphe suivant, nous envisagerons la question à un tout autre point de vue : celui de savoir s'il existe une relation entre la conductibilité électrique et la concentration de l'émulsion, compte tenu des échanges qui peuvent s'effectuer entre les germes et le liquide dispersif et en réduisant ceux-ci jusqu'aux limites des erreurs d'expérience.

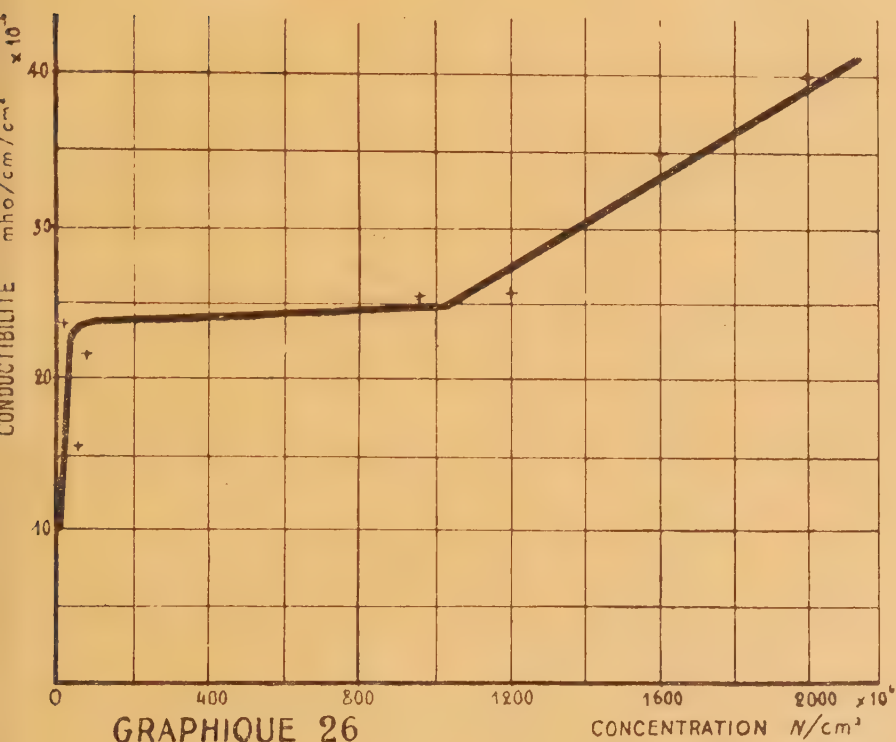
C. — Nous préparons extemporanément la suspension dont nous voulons mesurer la conductibilité, suivant la technique exposées aux pages 69, 95, 101 et 103. Nos expériences ont porté sur de nombreuses souches aussi bien humaines qu'animales de cocci et de bacilles. Dans les pages qui suivent nous rapportons seulement les **résultats** obtenus avec quelques-unes d'entre elles : staphylocoques, streptocoques, brucella melitensis et abortus, coli, pasteurella, salmonella...

Le nombre de germes est mesuré microscopiquement sur fond noir, dans une cellule compte-microbes ; les valeurs de la conductibilité sont exprimées en mho/cm/cm² à 18°C.

L'eau utilisée pour les émulsions est de l'eau bi-distillée stérilisée à l'autoclave (120° — 15 minutes) dans des récipients en verre neutre ; toutefois, la conductibilité de ces eaux étant variable après chaque stérilisation, nous avons pris soin de la mesurer avant chaque série d'expérience et nous la rapportons en tête des tableaux suivants (c'est celle qui correspond à la concentration nulle de la suspension étudiée).

a) Suspension de *staphylocoque doré* :

Concentration :	Conductibilité électrique en
Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	$\text{mho/cm/cm}^2 \times 10^{-6}$
0	10
6	17
12	20,8
17	24
60	16,2
72	22
240	24,5
960	25,5
1200	26
1600	35
2000	40



GRAPHIQUE 26

CONCENTRATION N/cm^3

La courbe ci-contre présente une allure caractéristique : montée brusque jusqu'à concentration d'environ 20 millions ; plateau jusque vers 1 milliard ; puis augmentation de la conductibilité suivant une fonction linéaire de la concentration (du moins jusqu'à 2 milliards).

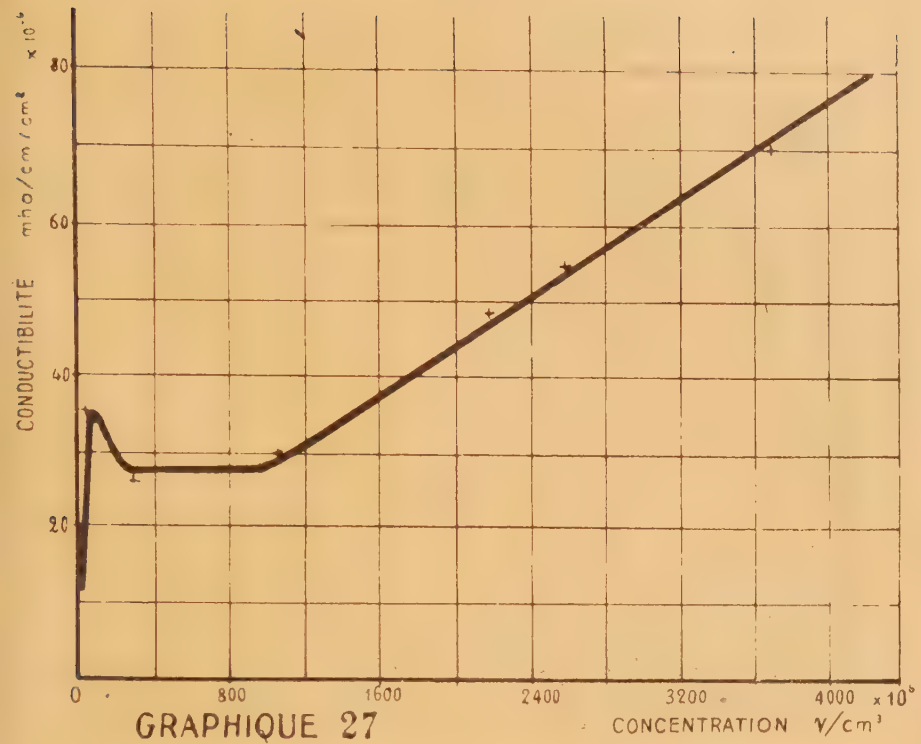
Une telle courbe ne pouvait pas être prévue d'après notre formule schématique. Cependant, si nous nous reportons au graphique 17 de la page 133, nous voyons que le même germe présente une diminution de sa mobilité électrophorétique quand la concentration de sa suspension croît jusqu'à 1 milliard environ, pour devenir constante au-dessus.

Nous verrons, à la fin de ce chapitre, comment s'accordent tous ces faits.

b) Suspension de *Brucella Abortus*, Souche bovine n° 61 :

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	Conductibilité électrique en : $\text{mho/cm/cm}^2 \times 10^{-6}$
0	12
7,4	29,4
17,5	31,4
35	35,6
150	31
300	27
520	28,1
740	25
1110	30
1500	36
2200	49
2600	55
3700	70

(Voir Graphique 27.)

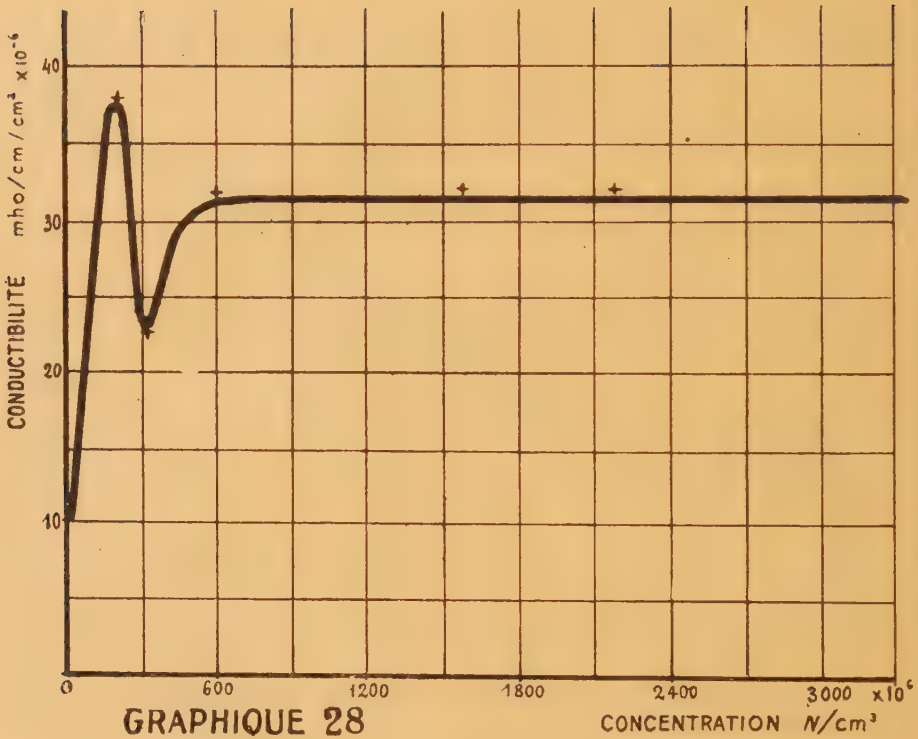


c) Suspensions de *Brucella Melitensis*, souche humaine n° 235 :

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	Conductibilité électrique en : $\text{mho/cm/cm}^2 \times 10^{-5}$
0	10
210	38,5
320	23,5
460	29,4
600	32,4
1600	32,4
2200	32
3200	29,7

(Voir Graphique 28.)

L'allure de la courbe est ici, tout à fait différente : la conduc-

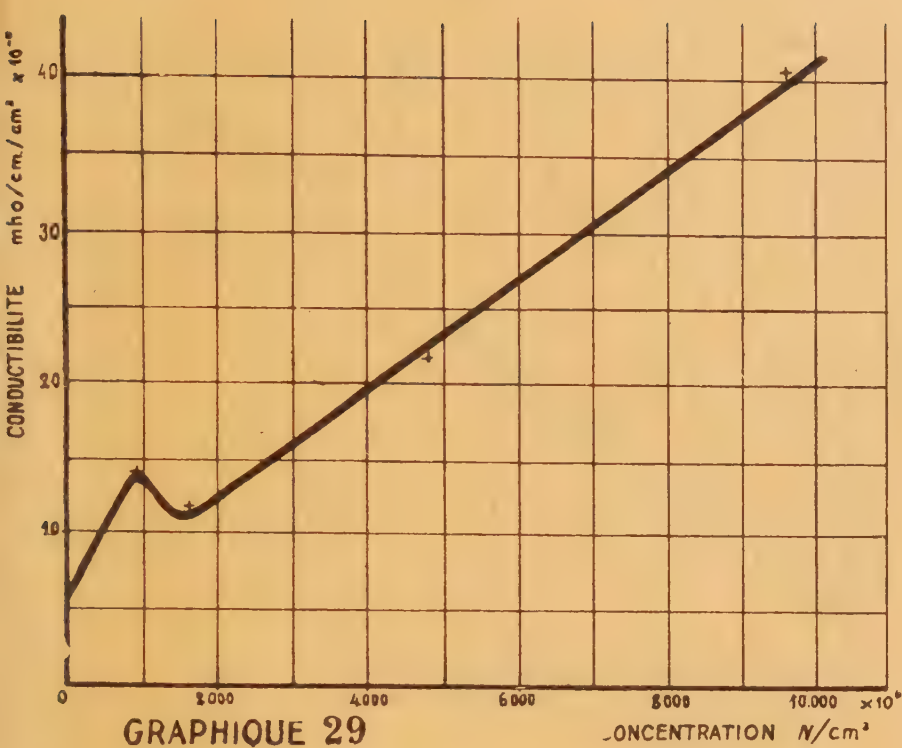


tibilité, après quelques oscillations dans les basses concentrations, se stabilise et devient à peu près constante pour les concentrations supérieures à 400 millions environ.

d) Suspensions de *Salmonella Equine* :

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	Conductibilité électrique en : $\text{mho}/\text{cm}/\text{cm}^2 \times 10^{-6}$
0	5,4
120	7,2
240	8,1
480	10,4
960	14
1600	12
4800	21,6
9600	40,5

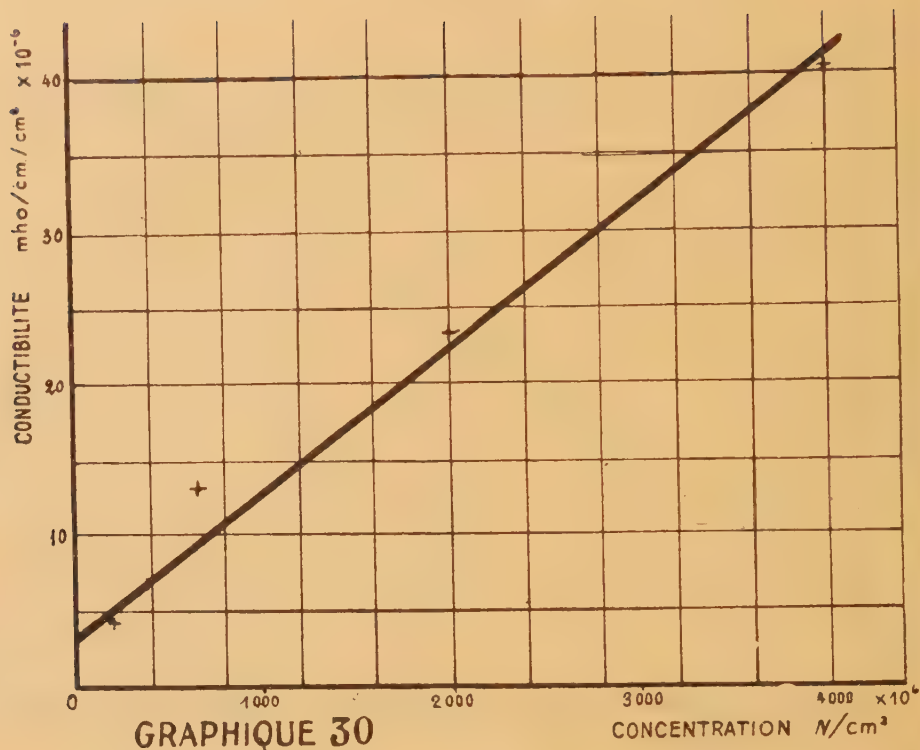
(Voir Graphique 29.)



e) Suspensions de *b. coli* D. P.

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	Conductibilité électrique en : $\text{mho/cm/cm}^2 \times 10^{-6}$
0	3,24
200	4,6
400	7,2
666	13
2000	23
4000	40,5

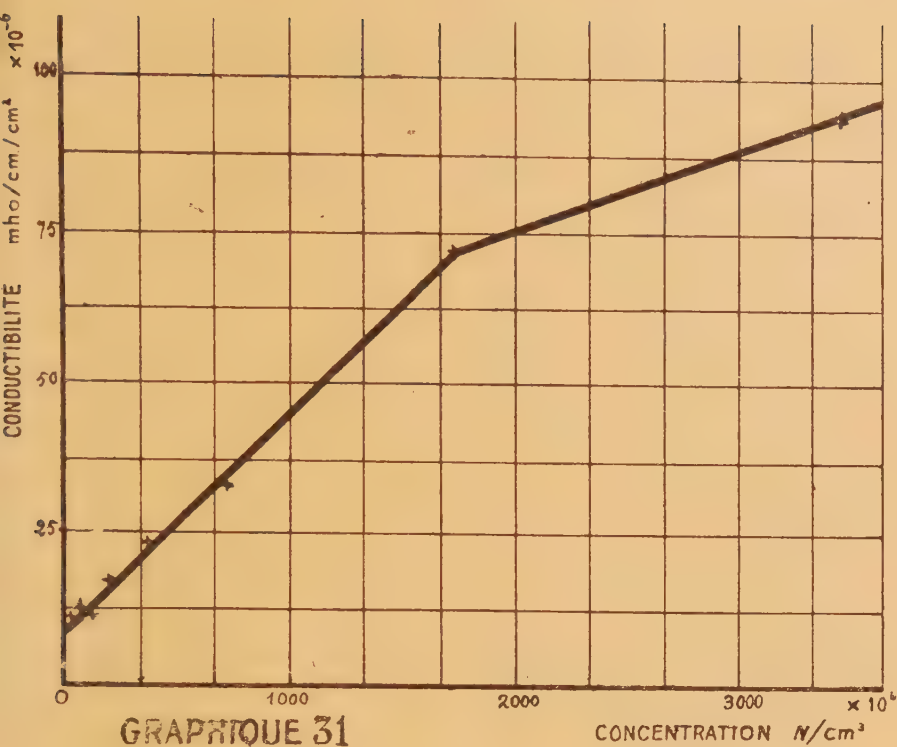
(Voir Graphique 30.)



f) Suspensions de *Pasteurella Bovine* :

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	Conductibilité électrique en : $\text{mho/cm/cm}^2 \times 10^{-6}$
0	7,7
17,5	9,2
35	10,4
70	11,5
106	10,8
140	14
230	15,4
350	23,1
700	32,4
1750	72
3500	95

(Voir Graphique 31.)



D. — Conclusions.

Existe-t-il une relation entre la concentration et la conductibilité électrique des suspensions microbiennes ?

Un fait est certain, c'est que la conductibilité d'une émulsion microbienne est toujours supérieure à celle de l'eau qui a servi à la préparer. Or, nous croyons que ce que nous mesurons, c'est bien la conductibilité des microbes en solution aqueuse et non des liquides excrétés ou sécrétés : en effet, la concentration des liquides diffusés par les germes (par suite la quantité d'électrolytes) est naturellement proportionnelle au nombre des germes de la solution, et si nous mesurons la conductibilité de ces électrolytes, nous devrions trouver des nombres proportionnels

au nombre des germes. Les graphiques précédents permettent au contraire de constater que, dans certains cas, la conductibilité est sensiblement constante, ce qui infirme notre seconde hypothèse.

D'une façon générale cependant, la conductibilité est proportionnelle à la concentration (coli D. P.) : la droite présente parfois un angle plus ou moins marqué. D'autre part, pour certains germes, après une ascension brusque, ou des variations inattendues dans les faibles concentrations, on peut avoir un palier de conductibilité jusque vers 1 milliard par cm^3 , concentration au-dessus de laquelle tout redevient proportionnel. Enfin, nous avons observé un cas où la conductibilité a été sensiblement la même pour des concentrations s'étendant de 400 à 3.200 millions.

En résumé, cas le plus général pour des concentrations moyennes (solutions troubles jusqu'au plus léger louche) : un accroissement du nombre des microbes entraîne une augmentation correspondante des charges électriques transportées, que celles-ci soient apportées par les germes ou proviennent de l'eau ; — cas particulier de conductibilité invariable quand N augmente : d'après notre formule (p. 151), u ou e doivent diminuer ; nous avons constaté qu'en effet, dans certains cas u diminue quand la concentration augmente ; il s'agira de voir s'il y a concordance entre le point où la mobilité cesse de décroître et celui où la conductibilité commence à augmenter : si oui, un tel point pourrait être appelé : point critique. Mais de quelle façon intervient la charge e : est-elle constante ? Remarquons que nous ne faisons que reculer le problème, car nous n'avons eu en vue que la charge électrophorétique et nous savons qu'il en existe d'autres (p. 48). Enfin nous ne saurions interpréter les cas où les variations sont quelconques et inattendues.

Sans prétendre à trop de précision dans l'étude de ces phénomènes complexes, nous pourrions cependant en retenir que, dans un intervalle de concentration déterminé, l'émulsion aqueuse

d'un microbe donné a, soit une conductibilité proportionnelle à la concentration en germes, soit une conductibilité sensiblement invariable : cette seule distinction représente déjà un appoint considérable à l'étude des suspensions microbiennes, dont nous allons essayer, maintenant, de résumer les propriétés électriques envisagées dans ce travail.

Résumé général du comportement électrique des émulsions microbiennes.

Nous n'entrerons pas ici dans le détail des hypothèses que l'on peut faire et des théories que l'on peut admettre, concernant la nature physique des germes. Elles ont été longuement discutées aux pages 61 à 66, 116, 125 à 131, 142 et 144, 149 et 150, 159 et 160. Nous voudrions seulement résumer les résultats obtenus, rapportés dans les pages précédentes.

Les microbes d'un même type, de même âge, provenant d'une même culture, mis en suspension dans de l'eau distillée stérile après avoir été débarrassés aussi complètement que possible des traces de gélose ou du bouillon, et étudiés dans les secondes qui suivent la préparation de l'émulsion, se comportent généralement de la façon suivante :

1° Leur vitesse de déplacement électrophorétique est fonction de leur concentration ; pour certains germes, cette vitesse est constante pour les concentrations supérieures à 1 milliard par exemple et croît pour des concentrations inférieures et de plus en plus faibles ; pour d'autres, la vitesse décroît constamment quand la concentration augmente, mais beaucoup moins vite au-dessus d'une certaine concentration ; pour les autres enfin, elle croît, puis diminue. En d'autres termes, comme cette vitesse de transport est la traduction de la charge électrocinétique de la particule, cela revient à dire que cette charge est le plus souvent une variable, fonction de la concentration de l'émulsion. Le germe considéré possède alors « une concentration critique » au-dessus de laquelle, par exemple, la charge devient constante

ou bien commence à décroître après avoir augmenté, ou bien encore décroît lentement et régulièrement après avoir diminué très rapidement ; cette « concentration critique » semble pouvoir être élevée au rang de « constante du microbe » comme le point isoélectrique dans l'échelle des pH.

2^o Le pH est lui-même une fonction de la concentration : une émulsion de germes négativement chargés est d'autant plus alcaline qu'elle est plus concentrée. Pour les germes positifs, la règle ne s'applique que partiellement, car on a vu qu'un accroissement de la concentration tendait à négativer leur charge. Cette dernière considération rendrait compte des divergences qui se sont manifestées parmi les auteurs au sujet du signe électrique des paratyphiques B (voir en outre p. 175). Toutefois les variations d'acidité et d'alcalinité provoquées par des différences de concentration sont minimales et n'aboutissent jamais au point isoélectrique.

3^o La conductibilité est généralement proportionnelle à la concentration de l'émulsion. Cependant, dans un certain nombre de cas, la courbe présente un point anguleux ou bien un palier, et met ainsi en évidence l'existence d'une « concentration critique » qui, ordinairement, correspond à celle trouvée par les mesures de vitesse de transport.

4^o Enfin, le microbe se comporte comme une molécule dissociée.

Quant à la mobilité (quotient de la vitesse par le champ), il semble que dans une émulsion de concentration donnée, elle soit une constante pour chaque germe, qu'elle caractériserait comme sa charge qui lui est proportionnelle, et les variations constatées en fonction du champ électrique sembleraient relever plutôt de phénomènes électrocapillaires se passant dans la cellule à électrophorèse. Il faudrait refaire tous les transports dans des cuves macroscopiques, mais là aussi, des erreurs d'un autre ordre seraient encore plus difficiles à éviter.



DEUXIÈME PARTIE

DIFFÉRENCIATION DES MICROBES PAR LEURS PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES

Il nous reste dans cette seconde partie, à grouper les caractères électriques d'un même germe et à les comparer à ceux des autres germes de la même famille, qui s'en distinguent par leur origine animale différente et par quelques propriétés biochimiques ou biologiques.

Toujours en fonction de la concentration, nous étudierons sur des émulsions microbiennes aqueuses, la charge et la conductibilité, et nous essaierons d'en retenir des caractères particuliers ou distinctifs.

Nous envisagerons successivement le groupe des : *Brucella* ; *Salmonella* et *Paratyphiques B*, auxquels nous joindrons le bacille d'Eberth, le paratyphique A et le colibacille ; *Corynebactérium* ; *Pasteurella*. Nous étudierons plusieurs souches et types de chacun d'eux (ceux que nous avons pu nous procurer), et nous ajouterons quelques résultats concernant des staphylocoques, des streptocoques, et deux souches de bacilles tuberculeux.

Nous n'insisterons pas, dans cette seconde partie, sur les détails techniques et expérimentaux : il suffira de se reporter aux pages précédentes auxquelles il n'y a rien à ajouter pour l'exposé des résultats suivants.

1^o Les Brucella.

A: — *Rappel bactériologique et propriétés des souches étudiées.*

On a classé les microbes de ce groupe en trois variétés : *Brucella melitensis*, *Brucella abortus bovis* et *Brucella suis*. Les germes, que nous avons étudiés, ont été isolés de l'homme, de la vache, de la chèvre, du cheval et classés d'après leurs caractères bactériologiques en : *Brucella melitensis* humain, bovin, caprin... *Brucella abortus* bovin, humain, suis, etc... Tous ces germes ont des propriétés morphologiques et tinctoriales identiques. HUD-
DLESON a montré qu'on peut les classer dans la plupart des cas en : *Brucella melitensis* et *Brucella abortus*, d'après la façon dont ils se développent sur milieux colorés (thionine au 1/30.000 et fuschine au 1/25.000) ; et suivant qu'ils dégagent ou non de l'hydrogène sulfuré (1).

Cette classification a été adoptée pour les germes que nous avons étudiés et qui nous ont été donnés par le centre de recherches sur la Fièvre ondulante (Montpellier).

Notre expérimentation porte sur :

5	souches	de	<i>Brucella Melitensis</i>	humains,
6	»	»	»	<i>Abortus bovis</i> ,
2	»	»	»	<i>Aberrants bovis</i> (2).
1	»	»	»	<i>Abortus</i> humain,
1	»	»	»	» porcine,
1	»	»	»	» équine,

(1) TAYLOR, LISBONNE et VIDAL, « La fièvre ondulante en France d'après les investigations du C. R. F. O. de Montpellier », Rapport présenté au XXI^e Congrès d'Hygiène, octobre 1934.

(2) Germes se rapprochant des *abortus bovis* par certains caractères, s'en éloignant par d'autres, et classés dans le groupe « *Aberrants* » par le C. R. F. O.

I	souche	de	Brucella	Melitensis	canin,
I	»	»	»	»	caprin,
I	»	»	»	»	ovin,
I	»	»	»	»	bovin.

Au total 20 germes qui nous ont été donnés avec leurs caractères cultureux par TAYLOR, VIDAL et ROMAN (du Centre de Recherches sur la fièvre ondulante à Montpellier), que nous sommes heureux de pouvoir remercier ici, de leur grande obligeance.

B. — Analyse des *propriétés électriques des suspensions aqueuses de ces germes.*

- a) signe de la charge : négatif.
- b) échelle de pH entre 7 et 6 (eau de pH voisin de 6).
- c) conductibilité : l'étude de la conductibilité des suspensions de brucella nous a conduit à la distinction suivante :

1) Catégorie des abortus :

Conductibilité : proportionnelle à la concentration au-dessus de 1 milliard environ ; cette « concentration critique » peut s'abaisser, dans certains cas, jusqu'à 400 millions ; au-dessous, pas de fonction bien définie (palier peu net) ; l'allure de la courbe est celle du graphique 27 (p. 155).

2) Catégorie des melitensis :

Conductibilité : sensiblement invariable quelle que soit la concentration, au-dessus, toutefois, de 400 millions ; au-dessous, variations désordonnées. (Voir graphique 28, p. 156.)

d) Vitesse d'électrophorèse : dans tous les cas, la vitesse est constante ou varie assez peu pour toutes concentrations supé-

rieures à 600 ou 1000 millions ; au-dessous, elle est plus élevée : voir graphiques 18, 19 et 20, p. 135, 136 et 137). D'autre part, résultat remarquable, les valeurs de la vitesse permettent de classer les germes, non pas en *melitensis* ou *abortus*, mais d'après l'origine animale dont ils proviennent ; le tableau suivant résume les chiffres trouvés (qui sont exprimés comme toujours en μ par seconde dans un champ de 1 volt par cm. ; champ total 20 volts par cm.) :

germes	melitensis					Abortus				Aberrant
Origine	Humain	Bovin	Ovin	Caprin	Canin	Humain	Bovin	Suis	Equin	Bovin
Valeurs	1	2	0,65	1,25	1,8	1	1,9	2,2	1,8	1,8
extrêmes	1,38	2,2	0,72	1,35	1,9	1,5	2	2,4	1,9	2

En résumé :

germes	Humain	Bovin	Ovin	Caprin	Canin	Suis	Equin
Mobilités	1	1,8	0,65	1,25	1,8	2,2	1,8
	1,50	2,2	0,72	1,35	1,9	2,4	1,9
Coefficients proportionnels	2	3	1	2	2,5	3,5	2,5

C. — Résultats. :

1. — Mobilité (charge) : dans les conditions d'expérience, et pour des concentrations de l'ordre de 2 milliards par cm^3 , la mobilité paraît spécifique de l'espèce animale dont on a isolé le *Brucella* ; en d'autres termes, *brucella melitensis* et *brucella abortus* humains ont même vitesse électrophorétique, de même *brucella melitensis* et *brucella abortus* bovins, etc...

De plus, il y a des rapports simples entre les vitesses de toutes les espèces animales, de sorte qu'on peut affecter chacune d'elles d'un coefficient simple ;

Espèce ovine	1
» humaine	2
» caprine	2
» canine	2,5
» equine	2,5
» bovine	3
» porcine	3,5

2. — Conductibilité : toujours dans les mêmes conditions et au-dessus d'une concentration critique de 800 millions par cm^3 , les *brucella melitensis* ont sensiblement la même conductibilité pour toutes les concentrations, tandis que chez les *abortus*, la conductibilité est proportionnelle à la concentration.

3. — D'où, différence de constitution physique : tout se passe comme si l'organisme d'un *brucella* quelconque, après passage sur un être vivant déterminé, avait acquis héréditairement une constitution telle que sa charge soit devenue caractéristique de l'espèce animale et se conserve malgré les repiquages sur milieu de culture quelconques.

Cette différence de constitution physique semble se révéler d'une autre façon : chez *brucella abortus*, la charge deviendrait une constante pour toute concentration supérieure à la concentration critique, tandis que chez *brucella melitensis*, elle tendrait à diminuer dans les mêmes conditions.

D. — Mobilité et conductibilité ne sont-elles pas en rapport avec l'aptitude du germe à pousser sur milieu à la thionine ou à la fuchsine, avec sa propriété de dégager ou non de l'hydrogène sulfuré ? Les exemples étudiés infirment cette hypothèse, que nous avons d'ailleurs l'intention de reprendre. à la suite d'une part, de résultats intéressants et inédits, concernant les mutations de caractères biochimiques des *Brucella* ; d'autre part, des rapports entre leur virulence et le poids de leurs cendres,

E. — Les expériences que nous rapportons concernant la mobilité électrophorétique des *Brucella* datent de 1933 ⁽¹⁾. Depuis l'idée d'une charge spécifique de l'espèce animale a été reprise par un certain nombre d'expérimentateurs ; leurs résultats ne sont pas toujours d'accord avec les nôtres. Cependant, les expériences qui suivent, effectuées sur d'autres espèces microbiennes, semblent bien confirmer nos précédents résultats.

⁽¹⁾ LISBONNE et R. SEIGNEURIN [106], *C. R. Ac. Sc.*, t. CXCVI, 1933, p. 1747.

2^o *Salmonella* et paratyphiques B.

Bacilles d'Eberth, paratyphiques A et *Bacterium Coli*.

A. — *Rappel bactériologique* et propriétés des souches étudiées.

Les bacilles paratyphiques B faisant partie du groupe des *Salmonella* par l'ensemble de leurs propriétés biochimiques et culturales, nous avons pensé rechercher s'il était possible de retrouver des différences de vitesse électrophorétique analogues à celles des *Brucella*, parmi les paratyphiques B humains et les *Salmonella* animales. Nous avons utilisé pour cela des bacilles paratyphiques B isolés d'hémocultures par nous-même à l'hôpital et les bacilles des collections du laboratoire. Ces bacilles ont été agglutinés au 1/200 par le sérum antipara B, ont attaqué la gélose glucosée tournesolée, maltosée, lévulosée, mannitée, saccharosée, ainsi que le rouge neutre avec dégagement gazeux, n'ont pas attaqué le milieu de Grimbert ni la gélose lactosée tournesolée, n'ont pas produit d'indol et ont noirci le sous-acétate de plomb. Deux souches de *Salmonella* animales nous ont été aimablement envoyées par M. le Professeur RINGEARD à qui nous adressons tous nos remerciements pour sa grande obligeance.

Les bacilles d'Eberth, paratyphique A et coli dont nous citons ensuite un exemple pour mieux établir un parallèle entre leurs divers degrés de parenté avec les *Salmonella*, ont été choisis parmi les souches du laboratoire.

Les cultures utilisées, rappelons-le, sont toujours âgées de 24 heures et ne correspondent qu'aux colonies S.

B. — Analyse des *propriétés électriques* des suspensions aqueuses de ces germes.

a) Signe de la charge : pour les concentrations microbiennes étudiées, les bacilles d'Eberth, paratyphique A et coli, sont chargés négativement. Par contre, les paratyphiques B et les Salmonella se comportent comme s'ils étaient constitués chacun de deux types de germes, les uns positifs et les autres négatifs. En ce qui concerne les para B nous avons observé les faits suivants : la séparation des germes positifs des négatifs est difficilement réalisable : cependant, on peut arriver à obtenir des germes purement positifs en faible quantité ; ceux-ci, ensemencés sur milieux ordinaires, redonnent des germes négatifs et positifs. D'autre part, le vieillissement des cultures tend à négativer la charge, et on ne retrouve que des germes négatifs.

b) PH des suspensions : les résultats concordent en tous points avec les valeurs des charges électriques. Les paratyphiques B et Salmonella forment de suspensions peu alcalines, même légèrement acides pour les faibles concentrations (l'eau étant considérée comme neutre). Les coli, bacilles d'Eberth et para A forment, comme la majorité des germes, des suspensions plus alcalines que d'eau.

c) Conductibilité : les résultats sont beaucoup moins nets et ne permettent aucune différenciation des germes. Les courbes de la conductibilité en fonction de la concentration présentent en effet, aussi bien pour les germes positifs et négatifs, que strictement négatifs, des allures analogues : proportionnalité pour les concentrations supérieures à 2 milliards par cm^3 , au-dessous certaines courbes présentent des accidents plus ou moins importants, mais ne permettant aucune différenciation. — Il n'en est pas de même des valeurs relatives de la conductibilité : de nos expériences il ressort en effet que, pour une même concentration en germes, la conductibilité des suspensions de para B et de Salmonella est inférieure à celle des suspensions de para A,

Eberth, et coli-bacille. A titre d'exemple, nous donnerons le tableau suivant :

Conductibilité (en mho-cm-cm² $\times 10^{-6}$) des suspensions
(concentration 2000 $\times 10^6$ par cm³) de :

coli	Para B	Salmonella porcine	Salmonella équine	Para A	Eberth
23	19	15	13	26,5	25

On voit nettement que les germes mixtes ont une conductibilité inférieure aux germes strictement négatifs de la même famille ou de parenté voisine. Ce fait est probablement dû à ce que les germes positifs ont une conductibilité inférieure à celle des germes négatifs. Quoiqu'il en soit, le résultat précédent vaut la peine d'être signalé, mais il n'est d'aucun secours pour la différenciation de ces microbes. Les nombres précédents montrent encore que le para A est plus près de l'Eberth que du Para B, lequel se rapproche du coli.

d) Vitesse d'électrophorèse : De tous les germes étudiés, la moyenne des résultats pour des suspensions de concentration 2 milliards de germes par cm³, est la suivante (vitesse exprimée en μ /sec. par volt/cm., le signe + indique un déplacement vers la cathode, donc une charge positive, le signe —, une charge négative).

Eberth	Para A	Para B	Salmonella porcine	Salmonella équine	Colibacille
— 1,68	— 1,55	+ 0,47	+ 0,5	+ 1,55	— 1,16
		— 1,17	— 0,65	— 0,45	

Si nous prenons la moyenne arithmétique des vitesses des flux anodique et cathodique pour les germes mixtes (para B et Salmonella), nous obtenons les chiffres suivants, qui peuvent se comparer entre eux et avec les vitesses des germes parents :

Eberth	Para A	Para B	Salmonella porcine	Salmonella équine	Colibacille
— 1,68	— 1,55	— 0,35	— 0,1	+ 0,55	— 1,16

Les germes les moins chargés négativement sont donc dans l'ordre décroissant : le para B, les salmonella Porcine, les Salmonella Équine. Si l'on se reporte au tableau des conductibilités, on voit précisément qu'elles décroissent exactement suivant le même ordre. On voit, en outre, que le para B est plus près du B. coli par sa mobilité que du para A.

C. — Résultats.

a) Mobilité électrophorétique : elle permet de différencier les salmonella porcine et équine, des para B d'origine humaine. De plus, ces germes possèdent une constitution physique telle que tout se passe comme si certains d'entre eux étaient porteurs d'une charge positive et d'autres d'une petite charge négative. La valeur de ces charges est, ici encore, fonction de la concentration de la suspension (graphiques 23, 24, 25, p. 140 et 143) ; quand la concentration augmente, la charge des germes positifs diminue, celle des germes négatifs augmente.

b) Conductibilité : elle n'apporte aucun élément de différenciation des germes de ces groupes entre eux, sinon que, dans les mêmes conditions d'expérience, elle est plus faible pour les para B et Salmonella animales que pour les autres microbes (para A, Eberth, colibacille).

c) PH : Légère acidité des suspensions.

D. — Il existerait donc une différence de constitution physique considérable entre les bacilles d'Eberth et para A d'une part, les salmonella d'autre part. On peut dire en effet que, seuls de tous les microbes, les salmonella se comportent, en émulsion aqueuse, comme des particules chargées positivement

associées à quelques particules chargées négativement. Ce fait décrit par certains auteurs, non retrouvé par quelques autres (LASSEUR...), n'en constitue pas moins une particularité difficilement explicable dans les théories de l'agglutination en particulier, et peut-être en rapport avec certaines propriétés biochimiques qu'il s'agirait d'analyser avec soin. *Mais, faisons remarquer encore une fois — car, à notre connaissance, le fait n'a jamais été signalé, — que la charge électrocinétique telle qu'elle est calculée, est une fonction de la concentration microbienne et non une constante, et que, par conséquent, il peut arriver qu'à certaines concentrations plus élevées, la totalité des germes se comportent comme s'ils devenaient chargés négativement. Si nous ne craignons pas de nous répéter, nous dirions : de même que la charge varie quand varie l'acidité ou l'alcalinité de l'émulsion, de même la charge est une fonction de la concentration de la suspension, car le pH de cette dernière varie en même temps que la concentration, et cela, à la réflexion, est bien évident, puisque — que les germes se comportent soit comme des molécules, soit comme des particules chargées à priori, — ils produisent de toutes façons un changement de répartition d'ions (adsorption, neutralisation...) dans la solution dans laquelle ils sont introduits.*

3^o Les Pasteurellæ.

A. — *Rappel bactériologique et propriété des souches étudiées.*

On a divisé les Pasteurellæ en aviaire, ovine, porcine, bovine, équine et canine. « Sont-elles foncièrement différentes ? Leurs caractères généraux sont identiques et l'on peut admettre avec CHAMBERLAND que toutes les pasteurelloses proviennent d'un même microbe ayant acquis des propriétés pathogènes, des qualités virulentes variables, en partie fixées par une longue suite de passages chez les différentes espèces animales. » (DOPTER et SACQUEPÉE.) Ne retrouverait-on pas ici, des différences de mobilité, donc de charge électrique, modifiée au cours des nombreux passages animaux ?

Nous avons étudié des souches de Pasteurella bovine et de Pasteurella porcine, envoyés par M. le Professeur RINGEARD, à qui nous adressons toute notre gratitude.

La pasteurella porcine est l'agent de la pneumonie contagieuse du porc. Elle donne sur gélose, des colonies visqueuses.

La pasteurella bovine comporte plusieurs variétés. Elle provoque ordinairement la pneumo-entérite du bœuf et la diarrhée du veau. Elle présente les mêmes caractères que les autres pasteurella.

B. — Analyse des propriétés électriques des suspensions aqueuses de ces germes.

a) Signe de la charge : négatif.

b) Echelle de pH : suspensions légèrement plus alcalines que l'eau de préparation.

c) Conductibilité : elle est sensiblement proportionnelle à la concentration (graphique 31, p. 159), mais pour des concentrations égales, la conductibilité des *Pasteurella* porcines est supérieure à celle des bovines. Un fait doit, ici, être signalé : les suspensions aqueuses des *Pasteurella* porcines se centrifugent très difficilement, et malgré une prolongation de $3/4$ d'heure de la centrifugation à une vitesse d'environ 6.000 tours/minute, on n'obtient qu'un très petit culot : la presque totalité reste à l'état de suspension.

d) Vitesse d'électrophorèse : elle est plus élevée chez *Pasteurella* porcine que chez *Pasteurella* bovine, ce qui correspond bien chez cette dernière à une conductibilité plus petite. Nous venons de dire que les suspensions de *Pasteurella* porcines se centrifugent mal ; nous avons expérimenté sur le culot remis en suspension (donc, microbes lavés) et sur l'émulsion non centrifugeable (microbes non lavés aberrants) :

	Pasteurella Bovine			Pasteurella porcine			Past. Porcine non centrifugeable
Concentration $\times 10^6$ par cm^3	350	1750	3500	30	120	450	600
Conductibilité $(\text{mho-cm-cm}^2) \dots$	23	72	95	12	18	44	
Vitesse (en / sec-volt/cm.)	— 1,12	— 0,8	— 1,1	— 1,75	— 1,66	— 1,94	— 2,06
Intensité du courant d'électrophorèse (en millampère).....	0,05	0,15	0,5	0,01	0,02	0,04	0,75

On voit que la mobilité électrophorétique de la souche porcine est presque deux fois plus grande que celle de la souche bovine.

D'autre part, il ne semble pas exister de relation bien définie entre la mobilité et la concentration.

C. — *Conclusions et résultats.*

a) Mobilité électrophorétique : elle caractérise l'espèce animale origine. La souche porcine a une mobilité supérieure à la souche bovine, comme le brucella porcin avait une vitesse supérieure au brucella bovin (p. 169).

b) Conductibilité : sensiblement proportionnelle à la concentration des suspensions, pour les concentrations étudiées.

c) Stabilité : les suspensions aqueuses de *Pasteurella* porcines se centrifugent très difficilement, à l'inverse de toutes les autres suspensions que nous avons eu l'occasion d'étudier.

4^o Les *Corynebacterium*.

A. — *Rappel bactériologique* et propriétés des souches étudiées.

Le genre corynebactérium se divise en trois groupes : bacilles de Löffler, bacilles d'Hoffmann, bacillus cutis communis. Le tableau suivant, emprunté à l'ouvrage de DOPTER et SACQUÉE, indique leurs caractères différentiels.

	Coloration par le gram	Granulations de NEISSER	Cultures en gélose de VEILLON	Fermentation du glucose
Bacilles de Löffler	Coloration peu résistante à l'action de l'alcool	Presque constantes, ovoïdes, régulières, polaires	Pousse en anaérobiose, colonies profondes	Positive
Bacilles d'Hoffmann	Coloration résistante à l'action prolongée de l'alcool	absentes, ou bien granulations irrégulières, non polaires	Culture en surface seulement	Négative
Bacillus cutis communis	Coloration peu résistante à l'action de l'alcool	Presque constantes, ovoïdes régulières, polaires	Pousse en surface et en profondeur	Positive

Nous n'avons étudié les corynebactérium qu'au point de vue de leur vitesse de déplacement dans le champ électrique ; nous avons laissé complètement de côté la conductibilité et le pH des suspensions.

La culture utilisée est une culture sur sérum coagulé, âgée de 18 à 24 heures. On prélève avec une anse de platine un certain nombre de colonies, que l'on émulsionne dans de l'eau distillée stérile, de façon à avoir une suspension contenant approximativement 1 à 2 milliards de germes par cm^3 . Il est inutile de laver ces microbes car le raclage du sérum coagulé entraîne très peu d'électrolytes.

Les germes que nous avons étudiés ont été isolés par nous, à l'hôpital, dans des frottis de gorge, provenant soit de malades atteints de coryza diphtérique, soit de convalescents porteurs de germes. Ils présentent les caractères énumérés plus haut, à l'exception des corpuscules qui existent souvent aussi chez les bacilles d'Hoffmann.

B. — Analyse des *propriétés électiques* des suspensions aqueuses de ces germes :

a) Signe de la charge : négatif.

b) Vitesse d'électrophorèse : elle permet le classement des corynebacterium en bacilles de Löffler authentiques et en bacilles diphtérimorphes.

FALK et JENSEN ⁽¹⁾ (1928) eurent l'idée de rechercher si la vitesse de transport est en rapport avec la virulence ou la toxicité des cultures, c'est-à-dire s'il existe une relation entre la charge électrique et le pouvoir toxique des germes. À la suite de l'étude de 250 souches, ils concluent que plus le pouvoir toxigène est élevé, plus la vitesse d'électrophorèse est basse (p. 33). Nous avons repris ces recherches, dans le but de faire de ce nouveau caractère une méthode rapide de diagnostic entre les bacilles de Löffler et les bacilles diphtérimorphes ⁽²⁾ : pour cela, nous opérons sur la culture primitive du prélèvement sur

⁽¹⁾ FALK et JENSEN 52, *J. of Bacteriology*, XV, juin 1928, p. 367, 413, 421.

⁽²⁾ R. SEIGNEURIN 152, *Bull. Soc. Méd. et Biol. Montpellier*, mars 1935.

sérum coagulé ; la culture est parfois impure et peut être souillée par des cocci ; cela n'est pas un empêchement, car au microscope nous ne suivons les déplacements électrophorétiques que des bacilles, qui peuvent être soit diphtériques, soit diphtérimorphes.

Voici le résumé de nos résultats :

Date	Malades	Cultures	Mobilité des bacilles de Löffler	Mobilité des bacilles diphtérimorphes
1.34	Coryza diphtérique	b. diphtériques + staphylocoques	2,7 et 1,45	
1.34	»	b. diphtérique	2,75	
II.34	»	»	2,6	
»	»	»	1,8	
»	porteur de germes	B. diphtérique + B. pseudo-diphtérique	2,6	3,6
»	»	B. pseudo-diphtérique		3,1
»	Coryza diphtérique	B. diphtériques	2,7 et 1,85	
»	angine	»	2,7	
III.34	»	B. diphtérimorphes		3 et 3,1
»	Coryza diphtérique en traitement	B. diphtériques	2,2	
V.34	»	»	1,5	
1.35	angine	»	1,95	
»	»	»	2,3	
»	coryza	»	1,9	
»	angine	B. diphtérimorphes		3,5
II.35	»	B. diphtériques	1,9	
III.35	angine diphtérique	»	1,5	
»	diphtérie traitée	»	1,3 et 1,4	
»	diphtérie	B. diphtériques très longs	1,45 et 1,25	

Date	Malades	Cultures	Mobilité des bacilles de Löffler	Mobilité des bacilles diphtériques
III.35	Porteur de germes	Cocci + bacilles diphtériques longs	1	
»	»	B. diphtériques moyens	1,16	
»	»	rare cocci + bacilles diphtériques	1,1	
»	début d'un coryza	Staphylocoque + bacilles diphtériques longs	1	
IV.35	angine	B. diphtériques	0,93 et 1,6	
»	»	B. diphtériques + staphylocoques	0,85 et 1,1	
V.35	»	B. diphtériques	1,5	
VI.35	»	B. diphtériques + staphylocoques	1,3	

Nous avons également cherché les vitesses des bacillus cutis communis, et nous avons trouvé des valeurs de l'ordre de 3,5 à 4.

C. — Résultats.

L'électrophorèse permet de distinguer deux types de corynebactérium : les uns de vitesse faible (1 à 2,7), les autres de vitesse plus élevée (3 à 4) ; les premiers sont représentés par les bacilles de Löffler virulents ou avirulents ; les seconds sont les bacilles d'Hoffmann et cutis communis. Remarquons que certains bacilles diphtériques ont une vitesse voisine de 1, que d'autres ont une vitesse de l'ordre de 2,6 : peut-être y faut-il voir une différence de pouvoir toxigène, comme semblent l'indiquer FALK et JENSEN, qui trouvent pour les bacilles diphtériques virulents une vitesse de 3,4 et pour les diphtériques non virulents, une vitesse de 4,4 à 6,2 ; soit, exactement, la même proportionnalité que nous. L'examen des 28 souches étudiées ne nous permet pas de partager cette manière de voir.

5° Bacilles tuberculeux.

A. — *Rappel bactériologique* et propriétés des souches étudiées.

On connaît 4 types de bacilles tuberculeux, identiques par leurs caractères fondamentaux, mais différenciés par certaines particularités biologiques : ce sont les bacilles humain, bovin, aviaire et pisciaire. On admet généralement que les bacilles humain et bovin constituent deux types appartenant à une même espèce. Chacun de ces types est adapté à l'organisme qui lui convient.

Les cultures utilisées sont des cultures sur pomme de terre glycinée, âgées de 1 à 4 semaines. La suspension homogène, difficile à préparer, est ici obtenue de la façon suivante : on racle légèrement la pomme de terre, et on émulsionne le produit de raclage dans de l'eau distillée stérile. On centrifuge. Le culot est de nouveau émulsionné, puis centrifugé. L'émulsion finale est obtenue en agitant vigoureusement le culot dans de l'eau distillée en assez grande quantité avec des billes de verre. On laisse déposer les amas et on n'utilise que la suspension homogène. C'est dire que celle-ci est généralement très diluée : ainsi, dans le champ du microscope, on voit à peine 2 ou 3 bacilles.

Depuis déjà quelque temps, un certain nombre d'auteurs se sont préoccupés de distinguer par leur charge électrique les différentes variétés de bacilles tuberculeux ; d'une façon générale on peut conclure de leurs recherches ⁽¹⁾ que les germes des colo-

(1) Mlle CHOUCROUN et Harry PLOTZ [28], *C. R. Ac. Sc.*, CXCIX, juillet 1934, p. 165.

nies R ont une charge supérieure (et une virulence plus grande) que les germes des colonies S. D'autre part, la charge varie suivant l'âge de la culture ; enfin, pour les colonies R surtout, les types aviaire, humain et bovin, présentent des différences de mobilité électrophorétique.

Les résultats rapportés ci-après n'ont que peu de valeur, puisqu'ils ne portent que sur deux souches de bacilles tuberculeux. Nous avons cru cependant pouvoir les mentionner pour compléter notre étude sur la mobilité électrophorétique.

B. — *Vitesses de transport* de ces germes en suspension aqueuse étendue.

Dans un champ de 9 volts par cm., et pour une concentration inférieure à 1 milliard de bacilles par cm³, les vitesses de déplacement en μ par seconde, rapportées à un champ électrique de 1 volt par cm. sont :

Age de la culture	Souche Ratti (humaine)	Souche Vallée (bovine)
4 semaines	2,1	2,5
6 semaines	1,9	2,25

Nous retrouvons donc, encore, une différence entre les germes d'origine humaine et ceux d'origine bovine. Comme pour les *Brucella*, la souche humaine est plus lente que la souche bovine.

D'autre part, le vieillissement des cultures tendrait à diminuer la charge des particules, à l'inverse de ce qui se produirait chez les *Brucella*, où les coccobacilles provenant de cultures âgées ou simplement tués par la chaleur, auraient une charge plus élevée que les microbes jeunes.

6° Streptocoque pyogène et streptocoque gourmeux.

Une étude détaillée du groupe des streptocoques constituerait à elle seule un chapitre extrêmement important, tant par la variété de ces germes que par la quantité de leurs origines possibles. Notre intention est de rapporter simplement l'étude succincte de deux souches, pour montrer que ces germes se comportent comme la grande majorité des microbes négatifs considérés jusqu'à présent.

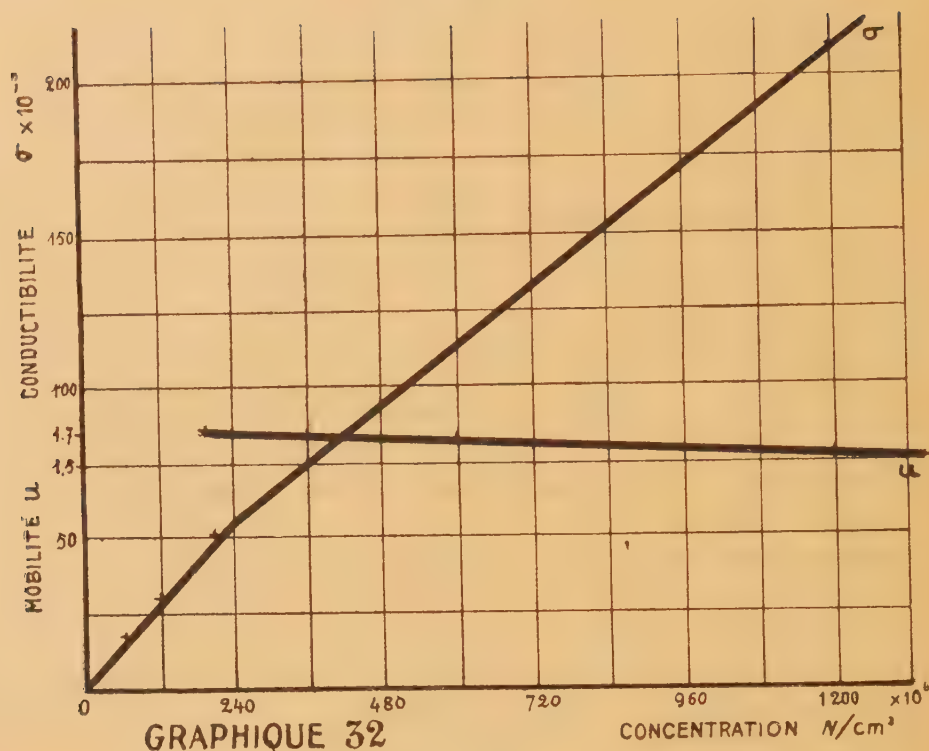
a) *Streptocoque pyogène* (origine humaine).

Culture sur bouillon, âgée de 72 heures, centrifugée ; le culot est émulsionné dans de l'eau distillée stérile.

Concentration Nombre de germes par cm ³ × 10 ⁶	Conductibilité σ en mho/cm/cm ² × 10 ⁻⁶	Mobilité $u = \frac{v}{H}$
0	3,3	
60	18	
120	32,4	
200	48	— 1,7
600	115	— 1,7
1200	216	— 1,62
6000		— 1,5

Les valeurs de la conductibilité sont assez élevées, parce que la suspension provient d'une culture en bouillon insuffisamment lavée.

(Voir Graphique 32.)

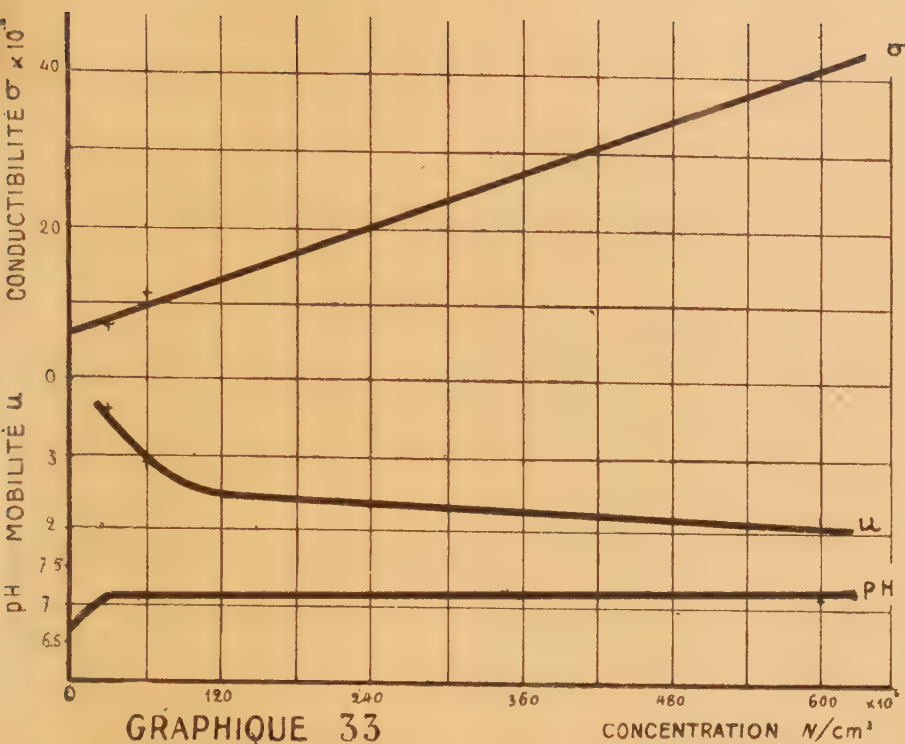


b) *Streptocoque gourmeux* (origine équine).

Culture sur gélose, âgée de 72 heures, centrifugée ; culot émulsionné dans de l'eau distillée stérile. La culture étant grêle, les suspensions sont peu concentrées.

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^6$	pH des suspensions	Conductibilité σ en mho/cm/cm ² $\times 10^{-6}$	Mobilité en $\mu/\text{sec-volt/cm}$ $u = \frac{v}{H}$
0	6,8	6,2	
30	7,1	7,2	3,6
60	7,1	12	2,95
600	7,2	40,5	2,16

(Voir Graphique 33.)



c) Résultats :

1. — Mobilité électrophorétique : elle est beaucoup plus grande pour la souche équine que pour la souche humaine. Nous savons que certains auteurs ⁽¹⁾ ont même constaté des différences de vitesse de transport entre les streptocoques d'un même animal arthro-rhino-neurotropes...

2. — PH des suspensions : légèrement alcalines.

3. — Conductibilité : proportionnelle à la concentration en germes, tandis que la mobilité varie en sens inverse.

(1) ROSENOW [142], *Arch. of intern. med.* Chicago, n° 3, LI, mars 1933,

7° Staphylocoque doré et staphylocoque blanc.

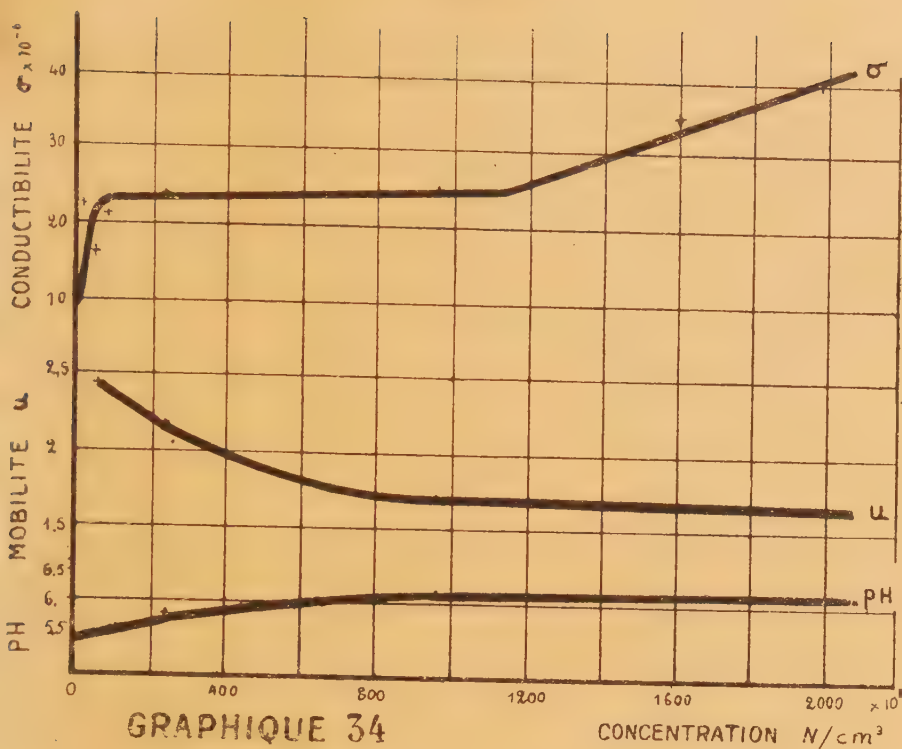
Ici encore nous ne donnerons qu'un exemple de chacun de ces germes, étant entendu qu'une étude un peu détaillée exigerait non seulement l'examen des staphylocoques prélevés chez de nombreux animaux différents, mais aussi isolés d'organes différents.

a) *Staphylocoque doré* (provenant d'un pus d'ostéomyélite) :

Concentration :	Conductibilité	Mobilité	
Nombre de germes	σ : mho/cm/cm ²	$u = \frac{v}{H}$	pH
par cm ³ $\times 10^6$	$\times 10^{-6}$	(μ /sec par volt/cm)	
0	10		5,7
6	17		
12	20,8		
17	24		
60	16,2		
72	22	2,4	
240	24,5	2,18	5,9
960	25,5	1,73	6,2
1200	26		
1600	35	1,7	6,2
2000	40	1,69	

(Voir Graphique 34.)

C'est l'exemple le plus typique que nous avons trouvé : nous y



découvrons en effet, un ensemble de caractères qui, tous, concordent d'une façon surprenante.

1° La conductibilité croît d'abord très rapidement avec la concentration, puis reste sensiblement constante entre 100 millions et 1 milliard de germes par cm^3 ; au-dessus, elle devient exactement proportionnelle à la concentration.

2° La vitesse de transport ou mobilité décroît jusque vers une concentration de 1 milliard, c'est-à-dire pendant tout le temps que dure le palier de conductibilité ; au-dessus de 1 milliard, elle reste sensiblement constante (alors que dans le même intervalle, la conductibilité croît proportionnellement à la concentration).

3° A mesure que la concentration augmente, le pH se déplace vers l'alcalinité puis tend à rester fixe pour les concentrations supérieures à 1 milliard.

4° La concentration 1 milliard de germes par cm^3 mérite donc le nom de concentration critique.

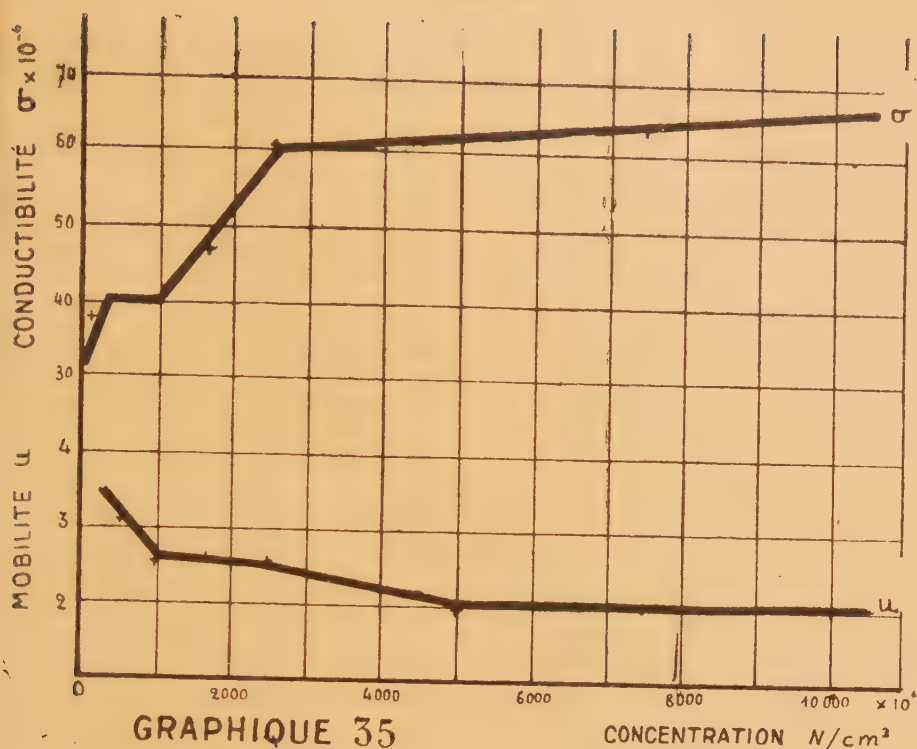
b) *Staphylocoque blanc* (provenant d'une culture d'urine souillée lors du prélèvement) :

Concentration : Nombre de germes par $\text{cm}^3 \times 10^{-6}$	Conductibilité σ mho/cm/cm ² $\times 10^{-6}$	Mobilité en μ/sec par volt/cm $u = \frac{v}{H}$
0	33	
125	38	
250	40	3,46
500	40	3,14
1000	41	2,56
1600	47	2,56
2500	60	2,47
5000	62	2
7500	64	2
10000	66	2

(Voir Graphique 35.)

L'expérience a, ici, porté sur des concentrations beaucoup plus élevés, et les résultats qu'elle fournit n'en sont que plus intéressants:

1° La conductibilité croît d'abord très rapidement avec la concentration, puis reste sensiblement constante entre 125 millions et 1 milliard de germes par cm^3 ; au-dessus elle devient exactement proportionnelle à la concentration : jusqu'à présent tous ces caractères sont identiques à ceux du staphylocoque doré. Mais voici, où le phénomène devient intéressant : au-dessus



de la concentration 2 milliards 500 millions, la conductibilité n'augmente presque plus pour des variations considérables (du simple au quadruple) de la concentration ; on pourrait presque parler de deuxième palier de conductibilité.

2° La vitesse de transport électrophorétique décroît jusqu'à la concentration de 1 milliard (première concentration critique) : elle reste sensiblement invariable de 1 milliard à 2 milliards 500 millions (deuxième concentration critique) ; au delà elle diminue de nouveau, pour atteindre au-dessus de 5 milliards, une vitesse constante.

c) Les graphiques 34 et 35 sont donc entièrement superposables et se complètent mutuellement.

RÉSULTATS ET CONCLUSIONS

L'ensemble de nos recherches expérimentales nous ont amenés aux résultats suivants :

I. — L'électrophorèse microscopique montre que la plupart des microbes se comportent comme s'ils étaient porteurs d'une charge électrique négative (staphylocoques, streptocoques, corynebacterium, Pasteurella, Bac. coli, Bacilles de Koch, Bacilles dysentériques, Brucella, Bacilles d'Eberth, paratyphiques A...) ; Quelques autres (les bacilles paratyphiques B et les Salmonella) se comportent comme s'ils étaient constitués de germes négatifs et de germes positifs.

II. — La vitesse d'électrophorèse des microbes est proportionnelle à l'intensité du champ électrique (pour les faibles tensions) : dans certaines espèces microbiennes, on peut classer et distinguer les divers types ou races par leur mobilité (quotient de leur vitesse par le champ).

III. — Dans une même espèce microbienne, les races résultant de l'adaptation à tel organe ou telle espèce animale, races qui se distinguent par quelques caractères bio-chimiques, se distinguent aussi par leur mobilité. Ce caractère physique paraît héréditaire.

IV. — Les germes d'une même espèce ont des mobilités diffé-

rentes suivant leur virulence et leur pouvoir toxigène, suivant aussi qu'ils forment des colonies R ou S.

V. — Les suspensions aqueuses des germes négatifs sont plus alcalines que l'eau qui a servi à les préparer ; les suspensions des germes positifs sont plus acides.

VI. — La vitesse d'électrophorèse des microbes varie avec la concentration en germes des suspensions, suivant des fonctions relativement simples.

VII. — La conductibilité électrique des suspensions microbiennes varie aussi avec leur concentration en germes.

VIII. — Les courbes de la vitesse de transport et de la conductibilité en fonction de la concentration en germes, présentent des points caractéristiques communs, que nous avons cru pouvoir appeler : concentration critique.

IX. — En envisageant l'ensemble de ces courbes, on voit que les variations se produisent soit régulièrement, soit par paliers successifs, de sorte qu'il serait peut-être possible de considérer le microbe comme une molécule dissociée, qui se comporterait, suivant le signe de sa charge, comme un acide ou une base faibles.

* * *

Ces résultats ne sont pas définitifs. Bien qu'obtenus après de longues heures de recherches, ils portent sur l'examen de trop peu de souches microbiennes et sur des expériences en nombre trop restreint, dont les conditions sont encore insuffisamment définies et fixées, car elles s'appliquent à des phénomènes en perpétuel devenir.

En effet, une émulsion microbienne dans un milieu liquide est une phase vivante. Comme telle, ayant la vie pour base, elle évolue, se perpétue, et tend à l'équilibre. Entre le début

et la fin des expériences que l'on peut tenter sur elle, un changement l'a modifiée. L'utilisation systématique et exclusive des méthodes logiques du raisonnement mathématique ne peut donc en permettre que la connaissance partielle, c'est-à-dire chacun des petits faits physico-chimiques dont l'ensemble forme le complexe de cette phase vivante ; il semble que, de cette façon, l'on puisse arriver à en saisir séparément les mécanismes : mais, ceux-ci ne forment qu'une étape intermédiaire dans la connaissance de la suspension microbienne, comme l'édifice tétraédrique du carbone dans la constitution de l'acide tartrique actif, par exemple.

La compréhension totale d'une émulsion microbienne exige le groupement de ces résultats partiels, en se souvenant qu'elle a pour base la vie ; « nous ne devons pas oublier — comme l'exprime Charles NICOLLE dans « La Vie des Maladies Infectieuses » —, que les faits dont nous nous occupons sont mouvants, qu'aucune formule ne peut les fixer, définir, que nous n'en apercevons qu'un tronçon, que les commencements nous échappent, que le phénomène se modifie entre nos mains et, par conséquent, que ce que nous imprimons, n'est qu'une traduction maladroite, incomplète, d'un aspect momentané, d'une seconde au cadran illimité du temps ».

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDERHALDEN. — *Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden*, Abt. 3, Teil A, Elektrokinèse, 1928, p. 807.
2. ABPOTT J.-F. — *Science*, t. XXVII, 1908, p. 910.
3. APOSTOLI et DELAQUERRIÈRE. — *C. R. Ac. Sciences*, CX, 1896, p. 918.
4. ARKRIWIGHT. — *Jour. Hyg.*, t. XIV, 1914, p. 261.
5. BANCROFT. — *J. Of. exper. Zoology*, t. IV, 1907, p. 157.
6. BECHHOLD. — *Zeits. f. physik. chemie*, t. XLVIII, 1904, p. 385.
7. BÉQUET. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXIII, juillet 1926, p. 323.
8. BENIASCH. — *Zeits. f. Immunitätsfo.*, t. XII, 1912, p. 385.
9. BENIASCH. — *Zeits. f. Hyg.*, t. LXXVI, 1913, p. 209.
10. BOUTARIC. — « Les colloïdes et l'état colloïdal ». Paris (Alean), 1931, p. 82.
11. BOUTARIC et Mlle ROY — *C. R. Ac. Sc.*, t. CXC, 1930, p. 272.
12. BOUTARIC et TOURNEUR. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CXCI, 1931, p. 1011.
13. BROWN H. C. et BROOM J. C. — *Brit. Jour. Exp. Path.*, t. XIII, 1932, p. 324.
14. BROOKS S. C. — *J. Gen. Physiol.*, t. V, 1923, p. 365-381.
15. BUCHANAN et FULMER. — « Physiology and biochemistry of bacteria. » London, (Baillière, Tindall and Cox), 1928, p. 146-212-368.
16. BURKE et GIBSON. — *Journ. of Bacteriol.*, t. XXVI, n° 2, août 1933, p. 211.
17. BURTON. — *Phil. Mag.*, 1906, p. 476.

18. BURTON. — « Physical properties of colloïdal solutions. » (Longmans), 2^e édit., 1921, p. 136.
19. BURTON et BISHOP. — *Proc. Roy. Soc. Canada*, 1921.
20. CANTACUZÈNE et E. SORU. — *Arch. Roum. Path. exp. et Micro.*, t. IV, février 1931, p. 173.
21. CANTACUZÈNE et F. VLÈS. — *C. R. Soc. Biol.* (22), t. LXXXVII, 1922, p. 1155.
22. CARLGREN. — *Zeits. f. allgemein Physiol.*, t. V, 1905, p. 123.
23. CERNOVODEANU et V. HENRI. — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, 1906, p. 200.
24. CHANOZCRI. — *Bull. Inst. Past.*, t. XXII, 1933, p. 1061.
25. CHOUCROUN. — *J. Chim. Phys.*, t. XX, 1923, p. 352.
26. CHOUCROUN (Mlle). — *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXXVI, 1933, p. 777.
27. CHOUCROUN (Mlle). — *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXXIX, 1934, p. 36.
28. CHOUCROUN (Mlle). et Harry PLOTZ — *C. R. Ac. Sc.*, t. CXCIX, 9 juillet 1934, p. 165.
29. CLARK W. M. — « The determination of hydrogen ions », Baltimore, 1920-22.
30. CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN. — *C. R. Soc. Biol.*, t. XXXVIII, 1923, p. 779.
31. COHN et MENDELSON. — *Cohn's Beiträge*, 1879, III.
32. COMANDON. — *Arch. d'électricité médicale*, t. XXIII, 1913, p. 49-58.
33. COPLANS. — *Journ. path. and bact.*, t. XVII, 1912-13, p. 130.
34. COSTANTIN. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CLVIII, 1914, p. 1171.
35. COTTON et MOUTON. — « Les ultramicroscopes. » Masson, Paris, 1906.
36. COULTER. — *J. Gen. Physiol.*, t. IV, 1922, p. 30-309-403-515.
37. CUTCHEON Mc, Stuart MUDD, Max STRUMIA et LUCKE. — *Journ. of Gen. Physiol.*, t. XIII, juillet 1930, p. 669.
38. DALE H. — *J. Physiol.*, Part. I, t. XXVI, 1900-01, p. 291.
39. DAMBOVICEANU A. — *C. R. Soc. Biol.*, t. CIII, 1930, p. 633.

40. DAMBOVICEANU A. et Cella BARBER. — *Arch. roum. de path. exp. et micro.*, t. IV, 1931, p. 5.
41. DAMBOVICEANU A. — *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIX, 1923, p. 261.
42. DOUGLAS et SMITH. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, t. IX, 1928, p. 213.
43. EGGERTH A. H. — *J. Ge. Phy.*, 1923-24, p. 63 ; t. VI, 1923-24, p. 587.
44. EGGERT et BELOW. — *Journ. Gen. Phys.*, t. VI, 1923, p. 177.
45. EGGERT et JOHN. — « *Lehrbuch des physik. Chemie* », 1926, p. 441.
46. EISENBERG. — *Z. f. Bakt.*, t. LXXXIII, 1919, p. 70-472-561.
47. ELLIS R. — *Z. phys. Chemie*, t. LXXVIII, 1911, p. 321.
48. ELLIS R. — *Z. phys. Chemie*, t. LXXX, 1912, p. 597.
49. FALK I. S. — *Abstr. Bact.*, t. VII, 1923, p. 33-87-133.
50. FALK I. S. — « A theory of microbic virulence », « Electrophoresis of bacteria and other microorganismes and some relations to immunological theory », *Colloid Chemistry*, vol. 2, 1923.
51. FALK, JACOBSON et GUSSIN. — *J. Of. inf. diseases*, t. XXXVII, 1925, p. 481 à 513.
52. FALK et JENSEN. — *J. of. Bacteriology*, t. XV, juin 1928, p. 413-421.
53. FALK, JENSEN et MILLIS. — *J. of. Bacteriology*, t. XV, juin 1928, p. 367.
54. FALK et JACOBSON. — *J. of. infec. diseases*, t. XXXVIII, 1926, p. 182.
55. FALK et REDD. — *Amer. Jour. Physiol.*, t. LXXV, 1926, p. 616.
56. FALK et WINSLOW. — *J. Ge. physiol.*, t. VI, 1923, p. 177.
57. FIELD et TEAGUE. — *J. expr. med.*, t. IX, 1907, p. 222.
58. FINDLAY G. M. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, t. XI, juin 1930, p. 190.
59. FREUNDLICH et GYEMANT. — *Z. f. physik. Chemie*, t. C, 1922, p. 182.
60. FREUNDLICH — « *Kapillarchemie* » (Leipzig), 1923, 3^e Aufl.
61. FRIEDBERGER et EISLER. — *Cent. f. Bakt.*, t. XLIV, 1907, p. 695.
62. GIRARD P. — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 1921, p. 442.

63. GIRARD et P. AUDUBERT R. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVII, août 1918, p. 351.
64. GIRARD et Mlle LOURAU. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CIIC, 12 mars 1934.
65. GOUY. — *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXXIX, 1909, p. 654.
66. GOVAERTS P. — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920, p. 197 ; LXXXII, 1920, p. 927 ; t. L, 1921, p. 232 ; t. LXXXV, 1921, p. 244-667 ; t. LXXXVI, 1922, p. 976 ; t. XXXVIII, 1923 ; t. LXXXXVIII, 1924, p. 993 ; *An. et Bul. Soc. Méd. et nat. Bruxelles*, t. LXXVIII, 1921, p. 16-34. ; *Arch. inter. Physiol.*, t. XVI, 1921, p. 1-20.
68. GREELEY. — *Biol. Bull. Woods Hole Marine biological Laboratories*, t. VII, 1904, p. 3.
69. GUARDABASSI. — *La Diagnosi*, an. XIV, fasc. 3, giugno 1934.
70. GUARDABASSI. — *Boll. d. Acad. medico chirurg. Perugia*, n° 1, 1932.
71. GUARDABASSI. — XXXII Congresso d. Soc. ital. med. interna, Padova, 1926.
72. GUARDABASSI. — *Riviste di Biologica*, vol. XI, fas. V-VI, 1929.
73. GUARDABASSI. — *B. d. Sez. Ital. Soc. int. Micro.*, fasc. 3, mars 34.
74. GUASTALLA (Mme Lina). — *C. R. Soc. Biol.*, CVII, 30 mai 1931, p. 509.
75. GUEBEN et DE RASSENFOSSE. — *Arch. Physiq. Biol.*, juillet 1930, p. 103.
76. HARDY W. B. — *J. Physiol.*, XXIV, 1899, p. 288.
77. HARDY W. B. — *Proc. Roy. Soc. London*, LXVI, 1899-1900, p. 110.
78. HARDY W. B. et HARVEY. — *Proc. Roy. Soc. London*, LXXXIV, 1911-1912, p. 217.
79. HENRI et Mme GIRARD-MANGIN. — II notes, *C. R. Soc. Biol.*, vol. I et II, 1904.
80. HIRSCH. — *J. of. inf. diseases*, XXX, 1922, p. 259.
81. JOFFE, HITCHCOCK et MUDD STUART. — *Jour. Bakteriöl.*, XXV, 1933, p. 24.
82. KAHN M. C. et SCHWARZKOPF H. — *Amer. Rev. of tuber.*, XXIII, janvier 1931, p. 45.
83. KELLER Rudolph. — « Die Elektrizität in der Zelle » (*J. Kittls*) Mährlich ostr.

84. KLIGLER et OLITZKI. — *Brit. J. exp. Path.*, XII, avril 1931, p. 69.
85. KOCH. — *Centralbl. f. Bak. Orig.*, XCIX, 1926, p. 202.
86. KOFMAN. — « Signe électrique des microbes. » *Th. Médecine*, Lyon, 1927.
87. KRUMWIED et PRATH. — *Zeits. f. Immunität.*, XVI, 1913, p. 517.
88. KUHNE. — Cité par DALE (voir DALE), 1864.
89. KUNITZ M. — *Coll. Symp.*, 1928, p. 134, foot note.
90. LAMB. — *Brit. Ass. Rep.*, 1887, p. 495.
91. LASSEUR et JOUFFROY. — *Travaux Lab. d. Microbiologie d. la Faculté d. pharmacie de Nancy*, 1928.
92. LASSEUR et FRIBOURG. — *Id.*, 1928-29-30.
93. LASSEUR, FRIBOURG, OLIVIER et DUPAIX. — *Ibid.*, 1929.
94. LASSEUR et NOBLAT. — *Ibid.*, 1928.
95. LASSEUR et DUPAIX. — *Ibid.*, 1929-1932.
96. LASSEUR, DUPAIX et GEORGES. — *Ibid.*, 1932.
97. LASSEUR, DUPAIX et RENAUX. — *Ibid.*, 1934.
98. LASSEUR, DUPAIX et FRIBOURG. — *Ibid.*, 1934.
99. LECOMTE DU NOUY. — « Equilibres superficiels des solutions colloïdales. » Paris, Baillière, 1929.
100. LÉPINE P. — *C. R. Soc. Biol.*, CIV, 1930, p. 760 ; CV, 1930, p. 282.
101. LÉPINE P. — *C. R. Soc. Biol.*, CIV, 30 mai 1930, p. 385.
102. LÉPINE P. — *C. R. Soc. Biol.*, CIII, 1^{er} mai 1930, p. 1208.
103. LEVADITI et LÉPINE. — *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 10 janvier 1931, p. 34.
104. LEWIS. — « Chimie Physique » (Masson, Paris), t. I, 1920, p. 277.
105. LILLIE. — *Amer. Journ. Phys.*, VIII, 1903, p. 273.
106. LISBONNE et SEIGNEURIN. — *C. R. Ac. Sc.*, CXCVI, 1933, p. 1747.
107. LOEB J. — *J. Gen. Physiol.*, VI, 1923-24, p. 215.
108. LOEB J. — *J. Gen. Physiol.*, V, 1922, p. 109.

109. LOEB J. — « La théorie des phénomènes colloïdaux » (Alcan, Paris), 1925.
110. LORTET L. — *C. R. Ac. Sc.*, CXXII, 1896, p. 892.
111. MARMIER L. et GRYZEZ V. — *C. R. Soc. Biol.*, CVII, mai 1931, p. 317.
112. MARY MAVER et FALK. — *J. Of. Immunology*, XIV, 1927, p. 219.
113. MICHAELIS. — *Deutsch. Med. Wochensch.*, XXXVII, 1911, p. 269.
114. MICHAELIS. — « Pratikum der physical chemie », 1923, p. 126.
115. MUDD St. et MUDD E.B.H. — *J. Of. bact.*, Vol. IX, 1924, p. 151.
116. MUDD St., NUGENT, BULLOCH. — *J. Phys. Chemie*, XXXVI, 1932, p. 229.
117. NEISSER et FRIEDMANN. — *Münch. Med. Wochensch.*, LI, 1904, p. 465-827.
118. NORTHROP. — *J. Gen. Physiol.*, IV, 1921-22, p. 629-639.
119. NORTHROP et FREUND. — *J. Gen. Physiol.*, VI, 1923-24, p. 603.
120. NORTHROP et DE KRUIF. — *J. Gen. Physiol.*, IV, n° 6, 1922, p. 639-655 ; V, 1922, p. 127-605.
121. NICOLAU S. et KOPCIEWSKA L. — *C. R. Soc. Biol.*, CVIII, 1931, p. 364.
122. NICOLAU S., KOPCIEWSKA et CONSTANTINESCO V. — *C. R. Soc. Biol.*, CVI, 1931, p. 1100.
123. NICOLAU S. et KOPCIEWSKA. — *C. R. Soc. Biol.*, CIV, mai 1930, p. 290.
124. OKER-BLOM. — *Cent. f. Bakt.*, LXV, 1912, p. 382.
125. OLITZKY L. — *Journ. of Immunology*, XXII, avril 1932, p. 251.
126. OLITZKY L. et LONG. — *J. of. exp. med.*, L. 1929, p. 263.
127. OLITZKY et BOEZ. — *J. exp. med.*, XLV, 1927, p. 673-815.
128. OLITZKY. — *Journ. Of. Immün.*, XXIV, juin 1933, p. 505.
129. OLIVIER et BARNARD. — *J. Gen. Physiol.*, VII, 1924-25, p. 99-225.
130. OTTENBERG et STENBRUCH F.A. — *J. Of. Gen. Physiol.*, IX, 1926, p. 345.
131. PAVIOT, FLORENCE et JARRICOT. — *Soc. Méd. Hôp. Lyon*, 16 janvier 1934.

132. PIETTRE et CHRÉTIEN. — *C. R. Ac. Sc.*, CLXXXV, 1927, p. 1319.
133. POPESCU Cornélie, — *C. R. Soc. Biol.*, LXXXIX, 1923, p. 259-261 ; XCI, 1923, p. 750-752 ; XCII, 1923, p. 1136.
134. POWIS F. — *Zeits. physik. Chemie*, LXXXIX, 1914-15, p. 91-180.
135. PRÄUSNITZ et REITSTOTTER. — *Wissens. Forschungs.*, XXIV, 1931.
136. PRIDEAUX E. B. R. — « The theory and use of indicators » (London), 1917.
137. PROCHOWNICK et SPAETH. — *Deutsch. med. Wochens.*, 1890, p. 564.
138. PUTTER F. — *Zeits. f. Immunit. Orig.*, XXXII, 1921, p. 538.
139. RALPH TITSLER et MARTIN LISSE. — *Journ. of. Bacterio.*, XV, juin 1928, p. 310.
140. RIDEAL. — « Surface Chemistry ». *Univer. Press. Cambridge*, 1926.
141. RIMATTEI. — « Conductibilité électrique de quelques sérums. » *Thèse médecine*, Marseille, 1931.
142. ROSENOW E. C. — *Arch. of. intern. Méd.*, LI, n° 3, Chicago, mars 1933.
143. ROCHAIX, LE BOURDELLES et BRUN. — *C. R. Soc. Biol.*, C, 1929, p. 675.
144. ROSKAM. — « Physiologie normale et pathologique du globulin », 1927.
145. ROTH Paul. — *C. R. Soc. Biol.*, XCVII, 1927.
146. RUSS C. — *Proc. Roy. Soc. London*, LXXXI, 1909, p. 314.
147. SARTORIUS Fr. — *Zeits. f. Immunit.*, XV, 1926, p. 478.
148. SARTORIUS Fr. — *Zeits. f. Immunit.*, I, 1927, p. 155.
149. SCALFI A. — *Maggio* 1935, XIII, fasc. V, vol. VII, *Bolletino della sezione italiana*. — *Società internazionale di microbiologie*.
150. SCHIBLEY. — *J. exp. med.*, XI, 1924, p. 453.
151. SCHIEL. — *Deutsch. Arch. f. klin. med.*, XV, 1885.
152. SEIGNEURIN. — *Bull. Soc. Sc. Méd. Biol. de Montpellier*, mars 1935.
153. SGALITZER. — *Zeits. f. Hygiène*, LXXVI, 1913, p. 209.
154. SHEARER C. — *Proc. Cambridge phil. Soc.*, XIX, 1919, p. 263.

155. SHEARER C. — *J. Hyg.*, XXI, 1922, p. 77.
156. SHIONOYA TAKUJI. — 1922.
157. SICHERT Irmengard et MODROW. — *Centr. f. Bakterio.*, CXIX, 1930, p. I.
158. SIERAKOWSKI et LECZYCKA. — *Centr. f. Bakterio.*, CXXVII, 1933, p. 486.
159. SMITH Dorothea et JOFFE Eleonore. — *J. Of. Bacterio.*, XXVIII, août 1934, p. 127.
160. SMITH T. — *Science* 74, 1931, p. 21.
161. SMOLUCHOWSKI (cité par GRAETZ). — « Handbuch der Elektrizität und der Magnetismus. » Band 2, 1921, p. 38.
162. SORU Eugénie. — *Arch. Roum. Path. exp. et micro.*, I, 1928, p. 485.
163. SORU Eugénie. — *C. R. Soc. Biol.*, CXV, 1934, p. 1319.
164. SZENT-GYORGY. — *Bioche. Zeits.*, CXIII, 1921, p. 29 ; VII, 1921, p. 36.
165. TEAGUE et BUXTON. — *Z. physik. Chem.*, LVII, 1907, p. 47-76.
166. TEAGUE et BUXTON. — *Kolloid. Zeits.*, II, suppl. 2, 1908.
167. THORNTON W. M. — *Proc. Roy. Soc. London B.*, LXXXII, 1909-10, p. 638.
168. TODD Charles. — *Brit. J. exp. path.*, VIII, 1927, p. 369.
169. TRAMBUSTI. — 1927.
170. VLÈS Fred. — *Arch. phys. Biol.*, III, n° 2, 1924, p. 42.
171. VLÈS Fred. — *Arch. phys. biol.*, 31 déc. 1921 et 1^{er} mars 1922.
172. VLÈS Fred. — *Précis de Chimie-physique*, 1929.
173. VON ANGERER. — *Arch. f. hyg.*, XCII, 1924, p. 312.
174. WALTER KROSS et ZUELZER Margarete. — *Centr. f. Bakt.*, CXXVI, n° 280, 1932, p. 360.
175. WILLIS E. Gowens. — *J. Infect. Diseases*, XXXIII, 1923, p. 113.
176. WILSON G. S. et MILES A. A. — *Brit. J. exp. patho.*, XIII, 1932, p. I.
177. WINSLOW, FALK et CAULFIELD. — *J. Gen. Physiol.*, VI, 1923-24, p. 177.

178. WINSLOW, FALK et UPTON. — *J. of. Bacteria*, XI, 1926, n° 5.
179. WINSLOW et FLEESON Elisabeth. — *J. of. Gen. Physiol.*, VIII, 1926, p. 195.
180. WINSLOW et SHAUGHNESSY. — *J. Gen. Physiol.*, VI, 1923-24, p. 697.
181. YAMAHA et S. ABE. — *Science Reports of the Tokyo brurika Daigaku.*, avril 1934.
182. YAMAHA G. — *Arch. Phys. Biol.*, X, n° 2, mars 1933.
-

En ma qualité de Censeur de
tour j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

*Recherches sur la conductibilité et
l'électrophorèse des suspensions
microbiennes. Essai de différen-
ciation des espèces microbiennes
par leurs propriétés électriques,*
par M. SEIGNEURIN.

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 29 Juin 1935.

Le Professeur,
LISBONNE.

Vu :

Montpellier, le 29 Juin 1935.

le Doyen :

E. EUZIÈRE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 2 Juillet 1935.

Le Recteur,
TAILLIART.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-Propos	9
Introduction	13

HISTORIQUE

Suspensions microbiennes et champ électrique	17
Electrophorèse bactérienne	18
Microbes négatifs et microbes positifs, électrophorèse des virus	20
Théories de la charge électrique des microbes	24
Point isoélectrique et pH	27
Conductibilité	29
Différenciation des types microbiens par leurs propriétés électriques	31
Résumé et Conclusions	34

DES PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

Osmose et transport électrique des particules en général	39
Charge et stabilité des suspensions biologiques	41

Évaluation de la charge d'une particule	4
Méthodes d'électrophorèse	48
» de répartition dans l'espace	58
» de floculation	59
Valeurs des méthodes	60
Les ions dans les suspensions microbiennes	61
Microbes ayant adsorbé un nombre fixe d'ions	64
Microbes émettant des ions d'une façon continue	65
Conclusions	66

TECHNIQUE

Préparation des suspensions	69
Numération des germes	70
Electrophorèse	72
Dimensions des germes	87
PH des suspensions	88
Conductibilité des suspensions	90

RÉSULTATS DE NOS RECHERCHES EXPERIMENTALES

PREMIÈRE PARTIE

Propriétés électriques des suspensions microbiennes.

1 ^o Conductibilité électrique en fonction du temps	97
2 ^o Vitesses d'électrophorèse microscopique à différents niveaux de la préparation	104
3 ^o Vitesses d'électrophorèse et champs électrostatiques : mobi- lité des microbes	116
4 ^o Vitesses d'électrophorèse et concentration des suspensions	132

5 ^o PH des suspensions microbiennes ; pH et concentration des suspensions	146
6 ^o Conductibilité électrique des suspensions microbiennes	151
7 ^o Résumé : comportement électrique des émulsions microbiennes	162

DEUXIÈME PARTIE

Différenciation des microbes par leurs propriétés électriques.

Brucella	166
Salmonella et paratyphiques B ; B. d'Eberth, paratyphiques A et b. Coli	171
Pasteurellæ	176
Corynebacterium	179
Bacilles tuberculeux	183
Streptocoques	185
Staphylocoques	188

RESULTATS ET CONCLUSIONS	193
--------------------------------	-----

Bibliographie	197
---------------------	-----

SERMENT

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.
